

Aus der

Klinik für Neurologie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Lars Timmermann

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

**Effekte einer Langzeit-Therapie mit Pramipexol oder Levodopa auf
das nicht-motorische Verhalten im 6-Hydroxydopamin-Mausmodell
des idiopathischen Parkinson-Syndroms**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten
Humanmedizin dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität
Marburg

vorgelegt von

Guido Hermanns

aus Simmerath

Marburg, 2018

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

am 20.07.2018

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Herr Prof. Dr. H. Schäfer

Referent: Herr Prof. Dr. G. Höglinger

1. Korreferent: Herr Prof. Dr. F. Czubayko

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINFÜHRUNG	7
1	Das idiopathische Parkinson-Syndrom	7
1.1	Pathologie	8
1.2	Nicht-motorische Symptome	10
1.2.1	Demenz und Gedächtnisstörungen	11
1.2.2	Angst und Depression	11
1.3	Grundzüge heutiger Therapiestandards	13
1.3.1	Levodopa	13
1.3.2	Dopaminagonisten	15
1.3.3	PPX vs. L-Dopa: Therapie depressiver und kognitiver Symptome	17
2	Tiermodelle des idiopathischen Parkinson-Syndroms	17
2.1	Das 6-OHDA-Modell der Maus	19
3	Fragestellungen und Zielsetzungen	20
3.1	Führt eine bilaterale Läsion der SNpc durch 6-OHDA in Mäusen zu einem relevanten Parkinson-Modell?	20
3.2	Führt eine chronische bilaterale dopaminerge Denervierung zu Parkinson-typischen nicht-motorischen Symptomen?	20
3.3	Kann eine dopaminerge Langzeit-Substitutionstherapie der Entstehung nicht-motorischer Symptome vorbeugen bzw. ihre Ausprägung lindern?	21
II	MATERIAL UND METHODEN	22
1	Übersicht und Zeitplan	22
2	Das bilaterale 6-OHDA-Maus-Modell des IPS	24
3	Dopaminerge Therapie	26
4	Rotarod	26
5	Forced Swim Test (FST)	27
6	Social Interaction Test (SIT)	28

7	Morris Water Maze Test (MWM)	29
8	Novel Object Recognition Test (NORT)	30
9	Statistische Analyse	32
 III ERGEBNISSE		33
1	Histologische Vorarbeiten	33
2	Einfluss dopaminerger Langzeittherapie auf das Körpergewicht	33
3	Effekte der Therapie mit L-Dopa oder PPX auf die Motorik	35
4	Forced Swim Test: L-Dopa und PPX verringern das Treibenlassen und steigern das Strampeln	36
5	Social Interaction Test: die Langzeittherapie mit PPX steigert die Kontaktzeit, während L-Dopa sie senkt	37
6	Kognitive und Gedächtnis-Funktionen unter Langzeittherapie mit L-Dopa oder PPX	39
 IV DISKUSSION		42
1	Gewichtsentwicklung nach binigraler Läsion	42
2	Entwicklung motorischer Funktionen unter dopaminerger Therapie	42
3	Affekt-assoziiertes Verhalten unter dopaminerger Langzeittherapie	43
4	Gedächtnisfunktionen unter dopaminerger Langzeittherapie	44
5	Übersicht bisheriger Studien zu nicht-motorischen Symptomen	46
6	Schlussfolgerung	48

V	APPENDIX	49
1	Literatur	49
2	Abkürzungen	61
3	Verzeichnis der akademischen Lehrer	613
4	Danksagung	65
5	Publikationen	66
6	Zusammenfassung	67
7	Abstract	68

I EINFÜHRUNG

1 Das idiopathische Parkinson-Syndrom

Das idiopathische Parkinson-Syndrom (IPS) ist eine degenerative Erkrankung des extrapyramidal-motorischen Systems. Es gehört zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen. Im Rahmen der Erkrankung manifestieren sich durch Verlust dopaminerger Neurone der Substantia nigra pars compacta (SNpc) und einem hierauf beruhendem striatalen Dopamin (DA)-Defizit motorische und nicht-motorische Symptome (NMS).

Während motorische Symptome, wie Bradykinese, Rigor und Tremor, erst bei 70-80%iger Reduktion des DA-Spiegels im Striatum auftreten (Bernheimer et al., 1973), zeigen sich bestimmte NMS bereits in der Frühphase der Erkrankung. Dies sind unter anderem: Depression (Poewe et al., 1983; Oertel et al., 2001), olfaktorische Dysfunktion (Berendse et al., 2001; Stiasny-Kolster et al., 2005), REM¹-Schlaf-Verhaltensstörungen (Uchiyama et al., 1995; Stiasny-Kolster et al., 2005) und Gedächtnisstörungen (Brück et al., 2004). Letztere spiegeln sich insbesondere in der visuell-räumlichen Gedächtnisfunktion wieder (Pillon et al., 1997).

Durch das Auftreten dieser Symptome vor den motorischen Krankheitszeichen können diese als Frühsymptome angesehen werden. Da eine damit einhergehende Beeinträchtigung der Lebensqualität somit schon im Frühstadium der Erkrankung erfolgt, sollte deren Pathophysiologie geklärt werden, um symptomatische Therapien entwickeln zu können. Zudem könnte in Zukunft idealerweise eine neuroprotektive Therapie der Erkrankung bereits vor Erreichen einer 70-80%igen Schädigung der nigrostriatalen Projektion eingeleitet werden, um so den Krankheitsverlauf vor Auftreten der motorischen Symptome zu stoppen.

In dieser Doktorarbeit testeten wir daher die Hypothese, ob ein chronischer DA-Mangel in parkinsonrelevanten Regionen des Gehirns zu den charakteristischen nicht-motorischen Symptomen des IPS führt, insbesondere

¹ REM = Rapid Eye Movement

zu Depression und visuell-räumlichem Gedächtnisverlust. Weiterhin untersuchten wir, ob eine frühzeitige orale Substitution des DA-Mangels mit Levodopa (L-Dopa) oder einem Dopaminagonisten wie Pramipexol (PPX) die Folgen der strukturellen Veränderungen dopaminerger Areale und die damit verbundenen Symptome hemmt. Eine Bestätigung dieser beiden Hypothesen könnte eine wichtige Rolle als Basis einer Therapie der nicht-motorischen Parkinson-Symptome spielen.

Die Veröffentlichung der histologischen Forschungsergebnisse erfolgte bereits im Vorfeld dieser Inaugural-Dissertation im Rahmen der Doktorarbeit meines Con-Doktoranden Dr. med. Lukas Maurer („Effekte einer Langzeit-Therapie mit Pramipexol oder Levodopa auf die [¹²³I]FP-CIT SPECT in einem Mausmodell der Parkinson-Krankheit“, Marburg 2013) sowie in einer entsprechenden Publikation in der Zeitschrift Neuroimage (Depboylu et al., 2013).

In Abgrenzung zur Doktorarbeit von Herrn Dr. Maurer, die den Effekt einer dopaminergen Therapie auf die Neurodegeneration mittels serieller Single-Photon-Emissions-Computer-Tomographie (SPECT) untersuchte, fokussiert die hier vorliegende Arbeit auf die Abbildbarkeit der neurostrukturellen Veränderungen bzw. der dopaminergen Therapie mittels Verhaltenstests. Alleine der initiale operative Part der nigralen Läsion wurde gemeinsam durchgeführt, da im Folgenden auch auf die gleichen Kohorten von Versuchstieren zugegriffen wurde.

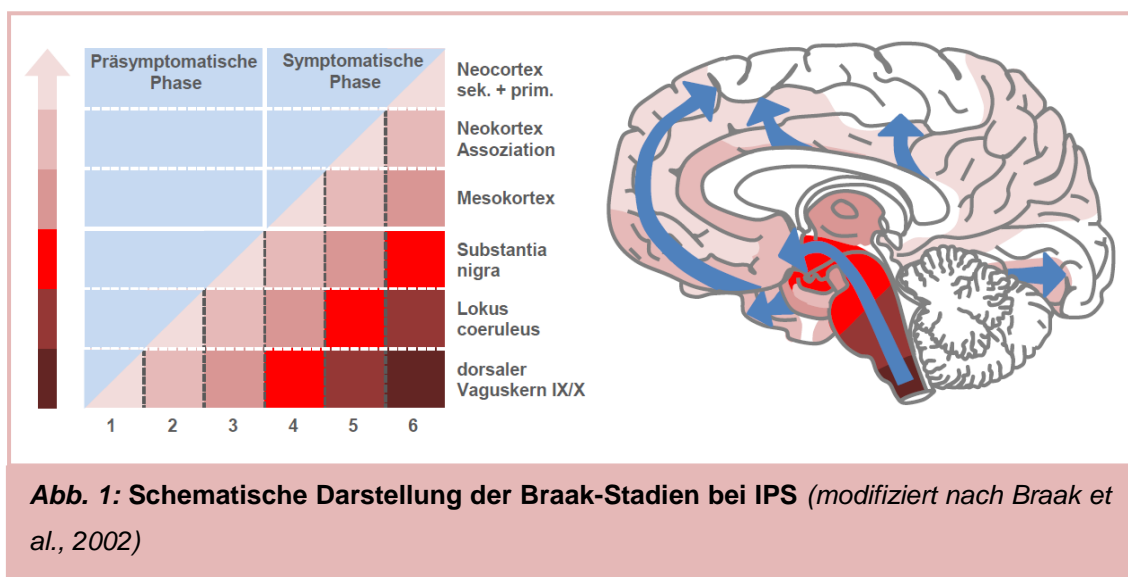
Die Ergebnisse der im Rahmen meiner Doktorarbeit dargestellten Untersuchungen fanden zuvor ebenfalls Eingang in eine Publikation (Chiu et al., 2015).

1.1 Pathologie

Wie eingangs geschildert führt der über Jahre hinweg andauernde degenerative Prozess dopaminerger Neurone schließlich bei einem um 70-80% reduzierten Dopaminspiegel im Striatum zu den klassischen Symptomen des IPS (Hornykiewicz, 1963; Bernheimer et al., 1973). Demgegenüber steht die Tatsache, dass zu diesem Zeitpunkt erst rund 60% der Neurone in der SNpc verloren gegangen sind (Hornykiewicz, 2006). Das legt die Vermutung nahe,

dass dieser Prozess möglicherweise durch ein „Dying-Back“-Phänomen, welches die ursächliche Läsion im Striatum sucht und erst dann zu einer Zellschädigung in der SNpc führt, gefördert oder gar erst ausgelöst wird (Wu et al., 2003). Eine andere Erklärung ist, dass die in der SNpc gelegenen Zellkörper vielfache Projektionen Richtung Striatum besitzen, und sich durch einen Zelltod der Effekt an mehreren Synapsen vervielfacht.

Ein für das IPS typischer histopathologischer Befund ist das Vorhandensein so genannter Lewy-Körper (Lewy, 1912; Holdorff et al., 2013). Dabei handelt es sich um eosinophile konzentrische Einschlusskörperchen im Nukleus der



Neurone. Weiterhin wird zur Diagnosesicherung der Nachweis von Lewy-Neuriten gefordert, sphärischen eosinophilen Proteinaggregaten im Zytoplasma.

Lewy-Körper und Lewy-Neuriten beinhalten neben Parkin, Ubiquitin oder Neurofilamenten als Hauptbestandteil α -Synuklein (Dauer et al., 2003). Letzteres ist namensgebend für die Synukleinopathien, eine heterogene Gruppe neurodegenerativer Erkrankungen, zu der auch das IPS zählt. Allen Synukleinopathien gemeinsam ist die intrazelluläre pathologische Ablagerung fehlgefalteten α -Synukleins.

Bei IPS-Erkrankten finden sich Lewy-Körper in der SN, im Nucleus basalis, Locus caeruleus, zerebralen Kortex, in sympathischen Ganglien und weiteren

Orten außerhalb des zentralen Nervensystems. War sich Lewy seiner damaligen Entdeckung in Bezug auf seine heutige Bedeutung auch nicht bewusst, so weiß man heute jedoch, dass bestimmte Hirnareale stadienabhängig durch diese Synukleinopathie befallen werden. Braak und Kollegen postulierten, dass die pathologischen Veränderungen des IPS in der Medulla oblongata und im Bulbus olfactorius beginnen und erst dann in 6 unterscheidbaren Stadien rostral Richtung Kortex fortschreiten. So lässt sich unter anderem das frühzeitige Auftreten von NMS in den Braak-Stadien 1 und 2 erklären (Braak, 2002 & 2006; s. **Abb. 1**).

1.2 Nicht-motorische Symptome

Ist das IPS den meisten Menschen vor allem durch seine klinisch imponierende veränderte Motorik bekannt, so versteht man es heute eher als eine komplexe Erkrankung, auch mit zahlreichen NMS. Diese sind im Laufe der Erkrankung teils weit vor dem Auftreten motorischer Beeinträchtigungen (Langston, 2006) zu beobachten. Dabei treten bei 97% der Parkinson-Patienten durchschnittlich 7,8 NMS auf (Barone et al., 2009). Mit dem Fortschreiten der Erkrankung rücken diese aus Patientensicht im Bezug auf die Lebensqualität in ihrer Bedeutung sogar oft vor die motorischen Einschränkungen (Khoo et al., 2013). Als wichtige NMS zu nennen sind nächtliche Schlafstörungen verbunden mit Erschöpfung und starker Tagesmüdigkeit (van Hilten et al., 1993; Gjerstad et al., 2007), Psychosen und Halluzinationen (Fénelon et al., 2000; Lee et al., 2012), Depressionen (Ravina et al., 2007), Angst (Stein et al., 1990), Apathie (Richard, 2006), autonome Dysfunktionen wie Obstipation, Hyperhidrose, orthostatische Hypotension, Harninkontinenz oder erektile Dysfunktion (Verbaan et al., 2007), Hyposmie (Tissingh et al., 2001) und Schmerzen (Goetz et al., 1986). Im Folgenden werden nur die für diese Doktorarbeit relevanten Themengebiete der kognitiven und depressiven Störungen näher beleuchtet werden.

1.2.1 Demenz und Gedächtnisstörungen

Die Demenz ist eine der häufigsten Komorbiditäten des IPS, die erheblich Morbidität und Mortalität der Patienten beeinflusst (Forsaa et al., 2010). Liegt die 8-Jahres-Prävalenz für ein Demenzleiden in Kontrollgruppen bei 40%, so ist dieses bei Parkinson-Erkrankten mit rund 78% deutlich gesteigert. In einem Alter von 90 Jahren liegt die kumulierte Inzidenz der IPS-Erkrankten sogar bei bis zu 90% (Aarsland et al., 2003; Buter et al., 2008).

Die Arbeiten von Braak und Kollegen unterstützen die Theorie, dass bereits in frühen prämotorischen Stadien des IPS (ab Braak Stadium 3) pathologische Veränderungen in Hirnarealen stattfinden, die die Kognition betreffen. Die Hauptcharakteristika dieses Stadiums sind Veränderungen von Melanoneuronen in der SN sowie von Projektionsneuronen in den magnozellulären Kernen des basalen Vorderhirns (Goldman et al., 2011). Daran angelehnt besteht die Hypothese, dass die Dopaminverarmung in den frühesten Stadien im dorsalen Striatum am schwersten ist. Nicht-dopaminerge Abnormalitäten entwickeln sich erst in späteren Stadien der Erkrankung. Der Effekt einer konsekutiven dopaminergen Therapie scheint dabei aber nur bedingt vorhersehbar. Einige komplexe kognitive Fähigkeiten werden verbessert, andere wiederum verschlechtern sich (Cools, 2006).

Im Rahmen von kognitiven Störungen bzw. Demenz ist neben Exekutivfunktionen (z.B. Set-Shifting, Aufmerksamkeit, Planung) und dem Sprachgedächtnis insbesondere das visuell-räumliche Gedächtnis und Lernen eingeschränkt (Sahakian et al., 1988; Raskin et al., 1990; Levin et al., 1991).

1.2.2 Angst und Depression

Die Häufigkeit einer Depression bei Parkinson-Erkrankten variiert im Mittel zwischen 40-50% (Tandberg et al., 1996; Ravina et al., 2007). Die Schwierigkeit diesbezüglich einheitliche Daten zu ermitteln ergibt sich aus dem Problem der exakten Diagnose einer Depression beim IPS. Klassische klinische Zeichen der Depression wie eine psychomotorische Verlangsamung, Konzentrationsschwäche oder Schlafstörungen treten beim IPS aufgrund der eigentlichen Grunderkrankung ohnehin auf, auch ohne das Vorliegen einer

Depression. Oftmals geht die Depression der motorischen Manifestation als Frühsymptom voraus, meist 3-6 Jahre vor Diagnose eines IPS, selten bereits bis zu 20 Jahre zuvor (Santamaria et al., 1986; Shiba et al., 2000). Ähnliche Ergebnisse finden sich auch für eine dem IPS vorangehende gesteigerte Ängstlichkeit (Shiba et al., 2000; Weisskopf et al., 2003).

Ein anatomisches Korrelat der Depression konnte lange nicht nachgewiesen werden. Ein Zusammenhang mit einem Noradrenalin- und Serotonin-Mangel in den Raphe-Kernen und dem Locus caeruleus ist derweil gut belegt (Richard, 2005; Dickson et al., 2009). Hinsichtlich der Rolle des „Glückshormons“ Dopamin stellt eine zunehmende Menge neurobiologischer Arbeiten Evidenz zur Dysfunktion des mesocorticolimbischen Belohnungs- und Motivationssystems zur Verfügung. Ein Dopaminmangel dieser Region als Folge der neurodegenerativen Veränderungen beim IPS wird als Ursache für eine Depression angesehen, wenn auch ohne Alleinstellungsmerkmal. Die Beteiligung weiterer Transmitter-Systeme verändert den Blickwinkel auf die Depression dahingehend, dass diese durch eine Dysbalance multipler Transmitter verursacht sein könnte (Salamone et al., 2016). Klinisch unterstützt wird die Annahme eines Zusammenhangs von Dopaminmangel und Depression bei IPS durch das Auftreten depressiver Symptome in Off-Phasen im Sinne von nicht-motorischen Fluktuationen (NMF). Eine Studie von Maricle et al. zeigte weiterhin anxiolytische Kurzzeit-Effekte durch L-Dopa-Infusionen in einer doppelblinden, single-dose placebo-kontrollierten Studie mit acht NMF-Patienten (Seppi et al., 2011).

Klinisch imponieren im Rahmen der Depression Traurigkeit, Anhedonie und Interessenlosigkeit. Schuldgefühle und das Empfinden von Wertlosigkeit treten hingegen seltener auf (Gotham et al., 1986). Angst-Symptome treten meist in Form von Panikattacken und generalisierten Angststörungen auf (Richard, 2005). Nicht zuletzt durch ihr Auftreten schon in frühen Krankheitsstadien haben Angst und Depression einen signifikanten Einfluss auf die Lebensqualität der betroffenen Patienten (Schrag, 2006; Hanna et al., 2012).

1.3 Grundzüge heutiger Therapiestandards

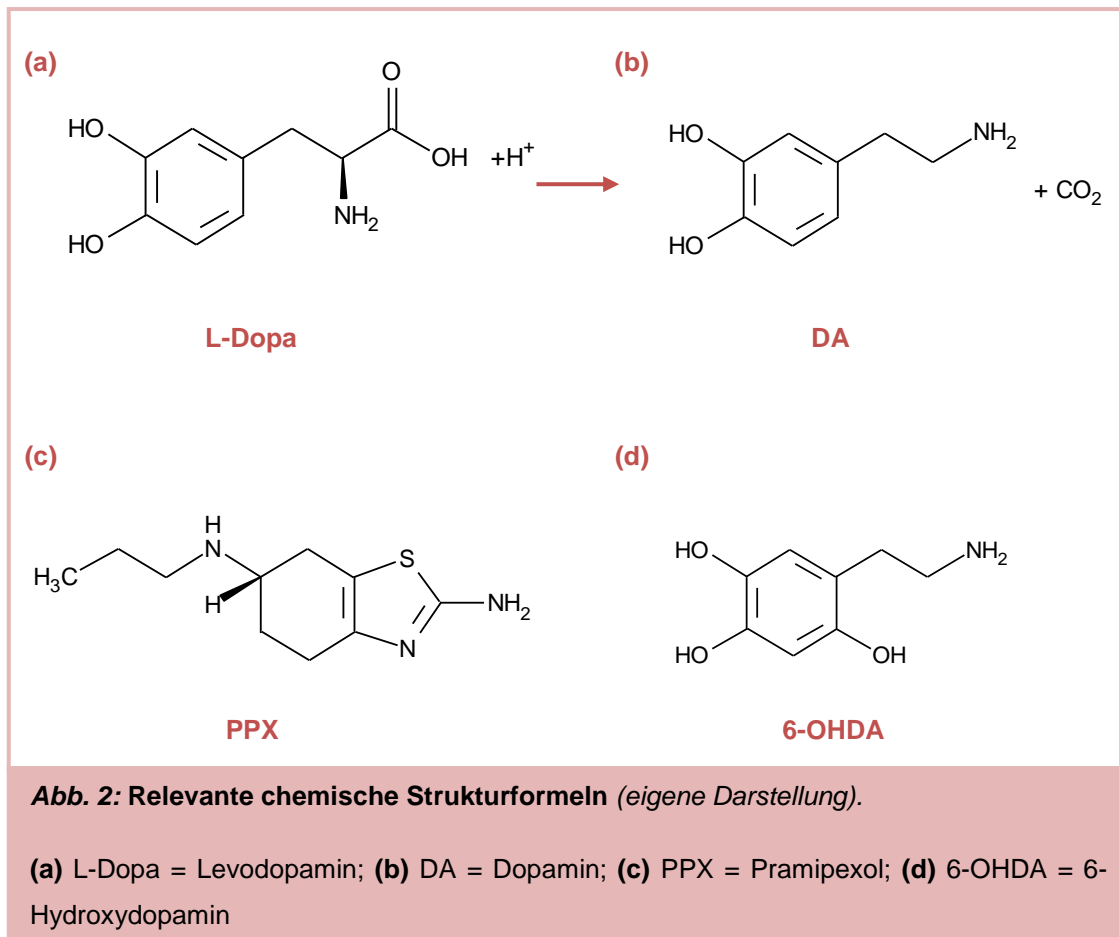
Die Bandbreite der verfügbaren pharmakologischen, chirurgischen und supportiven Behandlungsmöglichkeiten des IPS ist so groß wie bei keiner anderen degenerativen Erkrankung des zentralen Nervensystems. Trotz intensiver Forschung ist die Therapie aber bis heute rein symptomatisch. Eine neuroprotektive Wirksamkeit, welche den Krankheitsverlauf verzögern würde und mit der man sofort bei Diagnosestellung beginnen könnte, ließ sich bis heute für kein Medikament sicher nachweisen. Daher ist die Entscheidung, wann man mit einer medikamentösen Therapie beginnt, sehr individuell. Neuere multizentrische Langzeitstudien wie die PDLIFE-Studie empfehlen aber zunehmend einen frühzeitigen Beginn einer Therapie (Grosset et al., 2007). Ziel der Therapie sollte immer die bestmögliche Lebensqualität für den Patienten und seine Angehörigen sein, die sich beispielsweise im Erhalt der Berufsfähigkeit, dem Vermeiden von Begleiterkrankungen und medikamentösen Nebenwirkungen oder der Verhinderung einer Pflegebedürftigkeit äußert. Mit Levodopa und Dopaminagonisten, hier stellvertretend Pramipexol, stehen dem Neurologen zwei etablierte pharmazeutische Präparate zur Therapie des IPS Verfügung.

1.3.1 Levodopa

Levodopa (L-3,4-Dihydroxyphenylalanin oder kurz L-Dopa) wird als Vorstufe des Transmitters Dopamin durch die Tyrosin-Hydroxylase aus Tyrosin gebildet (s. **Abb. 2 (a)** und **2 (b)**). Die orale Applikation von L-Dopa etablierte sich zur Behandlung der Parkinson-Erkrankung zu Beginn der 70er Jahre. Bereits ein Jahrzehnt zuvor hatte man das Vorhandensein und das spezifische regionale Verteilungsmuster sowie die Bedeutung des Fehlens von Dopamin in eben diesen Hirnarealen entdeckt (Nagatsu et al., 2009).

Hat L-Dopa die Blut-Hirn-Schranke einmal überquert, so wird es in den dopaminergen Neuronen durch die Dopa-Decarboxylase in Dopamin umgewandelt. Dopamin selbst kann die Hirnschranke nicht überwinden.

L-Dopa wird immer in fester Kombination mit einem peripheren Decarboxylase-Hemmer (Benserazid oder Carbidopa) verabreicht, um einen Umbau zu



Dopamin im peripheren Organismus zu verhindern, was zu höheren Konzentrationen im Gehirn und zu geringeren peripheren Nebenwirkungen (Übelkeit, Erbrechen, Orthostase-Beschwerden) führt.

Zu Beginn der Erkrankung bleibt trotz schwankender Plasmaspiegel die Wirkung von L-Dopa im Tagesverlauf konstant. Nach einer 5-6-jährigen Monotherapie hingegen treten Wearing-Off-Phänomene auf (Wirkverlust bei Abfall des Plasmaspiegels), so dass nahezu 75% der Patienten End-of-dose-Akinesien oder nach einer Dosissteigerung unter Peak-of-dose-Dyskinesien leiden (Fahn, 1999; Calabresi et al., 2010). Die Pathogenese des Wearing-Off-Phänomens ist bislang nicht geklärt, man vermutet aber einen Zusammenhang mit einer gesteigerten Degeneration der nigrostriatalen Fasern. Dadurch ist nur eine verminderte Aufnahme an Dopamin möglich und somit weniger Pufferkapazität, um niedrige L-Dopa-Plasmaspiegel zu kompensieren (Olanow et al., 2001). An vegetativen Nebenwirkungen treten Übelkeit und Erbrechen,

Appetitlosigkeit, orthostatische Hypotension und Verwirrtheit bis hin zu Psychosen auf. Die kontroverse Diskussion, ob L-Dopa nun neurotoxisch oder eher neuroprotektiv sei, konnte bis dato nicht eindeutig abgeschlossen werden, wobei die Mehrheit der Wissenschaftler derzeit davon ausgeht, dass es keinen Hinweis auf klinisch relevante Neurotoxizität oder Neuroprotektion durch L-Dopa gibt (Suchowersky et al., 2006; Olanow et al., 2011; LeWitt et al., 2011).

1.3.2 Dopaminagonisten

Dopaminagonisten imitieren die Wirkung von Dopamin, indem sie am postsynaptischen Dopamin-Rezeptor binden und somit die degenerierte Präsynapse der nigrostriatalen Neurone umgehen (Gerlach et al., 2003). Bislang sind fünf Dopamin-Rezeptor-Typen bekannt, die in zwei Gruppen unterteilt werden: die D₁-Rezeptorgruppe, welche die Bildung von cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP) aktiviert (Rezeptoren D₁ + D₅), sowie die D₂-Rezeptorgruppe, welche die cAMP-Bildung hemmt (Rezeptoren D₂ + D₃ + D₄; Jaber et al., 1996). Dadurch wird das am DA-Rezeptor eingehende Signal jeweils verstärkt (D₁-Gruppe) oder gehemmt (D₂-Gruppe).

Eine Verbesserung der motorischen Funktionen wird in der Regel D₁- und D₂-Rezeptoren zugesprochen aufgrund ihres vermehrten Auftretens im Striatum. D₃- und D₄-Rezeptoren wiederum finden sich auch im limbischen System und sind für die Regulation von Verhalten und Stimmung wichtig. D₅-Rezeptoren wiederum finden sich in geringer Dichte im Hippocampus und Hypothalamus (Gurevich et al., 1998). Ihre Funktion entspricht der der D₁-Rezeptoren.

Die in Deutschland erhältlichen Dopaminagonisten haben je eine andere Affinität zu den Dopaminrezeptortypen. Die Dopaminagonisten selbst werden in Ergot²- und Non-Ergot-Derivate aufgeteilt. Erstere werden aufgrund ihres erhöhten Fibrose-Risikos von Pleura, Peritoneum, Perikard und Herzklappen in der heutigen Therapie kaum mehr verwendet. Die weiteren Nebenwirkungen entsprechen etwa denen von L-Dopa, wobei Ödeme, Somnolenz, Obstipation

² Die Gruppe „ergoliner“ Dopaminagonisten wurde zunächst aus einer Pilzart mit dem Namen Mutterkorn, auch Ergot genannt, hergestellt.

und Halluzinationen im direkten Vergleich häufiger auftreten (Stowe et al., 2008).

(S)-2-Amino-6-(propylamino)-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiazol, besser bekannt unter dem Freinamen Pramipexol (PPX, s. **Abb. 2 (c)**), zählt zu den Non-Ergot-Derivaten und bindet an Rezeptoren der D₂-Familie mit Bevorzugung des D₃-Rezeptors (Piercey, 1998). Die Bioverfügbarkeit liegt bei ca. 90%, die Elimination findet zu 90% renal statt. Sechs Stunden nach oraler Aufnahme wird die maximale Plasmakonzentration erreicht, die Halbwertszeit liegt altersabhängig bei 8-12 Stunden (Hametner et al., 2012). Die Zulassung für den deutschen Markt existiert seit 1997.

Neben seiner Wirkung auf die motorische Parkinson-Symptomatik wird PPX im Hinblick auf Antriebsstörungen ebenfalls ein positiver Effekt zugesprochen (Leentjens et al., 2009). Insbesondere eine antidepressive Wirkung konnte sowohl in klinischen (Barone et al., 2010; Rektorova et al., 2005) als auch Tierversuchen (Schulte-Herbruggen et al., 2012; Siuciak et al., 2004) dargelegt werden.

L-Dopa ist unabhängig vom Krankheitsstadium die effektivste medikamentöse Wahl. Dopaminagonisten, insbesondere PPX, erzielen jedoch nahezu vergleichbare Ergebnisse. Für PPX spricht dabei die geringere Rate an dopaminerg-induzierten motorischen Komplikationen, für L-Dopa das seltenere Auftreten von Somnolenz (Parkinson Study Group, 2004 + 2009). Im Hinblick auf diese L-Dopa-abhängigen Dyskinesien empfehlen einige Autoren zunächst mit einer Monotherapie mit einem Dopaminagonisten zu greifen und erst in höherem Alter L-Dopa zu verwenden (Marras et al., 2008).

1.3.3 PPX vs. L-Dopa: Therapie depressiver und kognitiver Symptome

Basierend auf bisherigen klinischen Studien nahm man früher an, dass die meisten NMS nicht auf eine dopaminerge Therapie ansprechen (Chaudhuri et al., 2009). Für PPX konnten in neuerer Zeit jedoch antidepressive Effekte im Tiermodell (Siuciak et al., 2004; Schulte-Herbruggen et al., 2012) sowie in klinischen Studien bei Monotherapie (Barone et al., 2010) oder in Kombination mit L-Dopa (Rektorova et al., 2005) gezeigt werden. Eine L-Dopa-Monotherapie hingegen erbrachte keine antidepressiven oder anxiolytischen Effekte (Eskow Jaunarajs et al., 2012).

Der Effekt auf kognitive Einschränkungen im Rahmen des Morbus Parkinson bleibt hingegen unklar. Für PPX konnten sowohl Verbesserungen des Gedächtnisses (Costa et al., 2009) als auch fehlende Effekte (Brusa et al., 2003; Kim et al., 2009; Bonito-Oliva et al., 2014) nachgewiesen werden. Ein gemischtes Fazit lässt sich auch unter L-Dopa-Therapie ziehen, wo es bezüglich kognitiver Funktionen zu Verbesserungen (Fernandez-Ruiz et al., 1999; Honig et al., 2009; Bonito-Oliva et al., 2014), Verschlechterungen (Schneider et al., 2013) oder keiner Veränderung (Molloy et al., 2006) in Tierversuchen kam.

2 Tiermodelle des idiopathischen Parkinson-Syndroms

Zur Erforschung der Parkinson-Krankheit wurden in der Vergangenheit verschiedene Tiermodelle in Abhängigkeit der jeweiligen Fragestellung entwickelt. Da IPS bei Tieren nicht spontan vorkommt wird die Erkrankung zumeist an Primaten, Ratten oder Mäusen künstlich induziert.

Dies kann sowohl medikamentös, durch genetische Veränderungen oder durch neurotoxische Tiermodelle erreicht werden. Eine Übersicht der gängigsten Tiermodelle zur Erforschung der Parkinson-Erkrankung gibt **Tab. 1** (nach Betarbet et al., 2002). Im Folgenden wird detailliert jedoch nur auf das unsererseits verwendete 6-Hydroxydopamin (6-OHDA)-Modell eingegangen. Dieses eignet sich wie erst kürzlich gezeigt zur Untersuchung der nicht-motorischen Parkinson-Symptome Depression und Gedächtnis am Besten (Campos et al., 2013).

MODELL	PATHOGENESE	SYMPTOME	ANWENDUNG	NACHTEIL
Reserpin	Pharmakologische Dopaminverarmung	Akinesie, Katalepsie	Präklinische Therapietestung zur Symptomverbesserung	Unspezifische Freisetzung von Monoamin-Transmittern; Hypothermie
Methamphetamin	Dopaminbezogener oxidativer Stress	Nicht parkinsonspezifisch	Überprüfen antioxidativer Therapien	Akut; begrenzte histopathologische Veränderungen
6-OHDA	Oxidativer Stress	Rotationsverhalten (bei einseitiger Läsion), Akinesie (bei beidseitiger Läsion)	Präklinische Testung von Therapien zur Symptom-verbesserung; Überprüfen pharmakologischer und genetischer Therapien zum Schutz dopaminerger Zellen	Akut bei intranigraler Injektion, subakut bei intrastriatärer Injektion.
MPTP	Oxidativer Stress; Inhibition mitochondrialer Komplex I	Akinesie, Rigidität bei Primaten, nicht parkinsonspezifisch bei Mäusen	Präklinische Testung von Therapien zur Symptom-verbesserung; Überprüfen pharmakologischer und genetischer Therapien zum Schutz dopaminerger Zellen	Akut oder subakut; nicht progressiv.
Paraquat-Maneb	Umwelttoxine, insb. Pestizide; Oxidativer Stress	Reduzierte lokomotorische Aktivität	Überprüfen pharmakologischer und genetischer Therapien zum Schutz dopaminerger Zellen	Bislang unzureichend erforscht.
Rotenon	Chron. oxidativer Stress; Chron. Inhibition mitochondrialer Komplex I	Akinesie, Rigidität, gebeugte Haltung	Überprüfen pharmakologischer und genetischer Therapien zum Schutz dopaminerger Zellen	Arbeits- und zeitintensiv. Hohe Mortalität und Morbidität.
3-Nitrotyrosin	Oxidativer Stress	Amphetamin-induzierte Rotation	Überprüfen antioxidantieller Therapien zum Schutz dopaminerger Zellen	Bislang unzureichend erforscht. Intrazerebrale Injektion notwendig.
α-Synuklein-Überexpression	Bekannte pathogene Mutationen	Reduzierte oder abnormale motorische Aktivität	Überprüfen pharmakologischer und genetischer Therapien zum Schutz dopaminerger Zellen	Rolle von α -Synuklein bei IPS weiter vage

Tab.1: Charakteristika der Parkinson-Tiermodelle (Modifiziert nach: Betarbet et al., 2002)

Abk.: **6-OHDA** = 6-Hydroxydopamin; **MPTP** = 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin

2.1 Das 6-OHDA-Modell der Maus

6-OHDA gilt als das erste entdeckte Neurotoxin mit Wirkung auf katecholaminerge Nervenzellen, insbesondere Dopamin und Noradrenalin aufgrund ihrer Strukturähnlichkeit (Senoh et al., 1959). Das Dopaminanalogon unterscheidet sich lediglich durch eine zusätzliche Hydroxylgruppe (vgl. hierzu **Abb. 2 (b)** und **2 (d)**). Dadurch erklärt sich seine entsprechend hohe Affinität zu zwei katecholaminergen Plasmamembrantransportern: dem Dopamin-Transporter (DAT) und dem Noradrenalin-Transporter (NAT). Seine Toxizität entfaltet 6-OHDA durch die Bildung freier Sauerstoffradikale, welche die jeweilige Zelle schädigen (Przedborski et al., 2005). Es resultiert eine selektive chemische Denervierung der dopaminergen Zellen. Zum Schutz der noradrenergen Zellen verabreicht man vor Injektion des Neurotoxins Desipramin, ein klassisches trizyklisches Antidepressivum. Dieses entfaltet seine Wirkung über die selektive Inhibition des NAT, so dass kein Noradrenalin und in der Folge auch kein 6-OHDA in die noradrenergen, wohl aber in die dopaminergen Zellen aufgenommen werden kann.

Das heutzutage häufig verwendete Verfahren der intrazerebralen Injektion wurde erstmals von Ungerstedt an Ratten beschrieben (Ungerstedt, 1968). Dieses Verfahren ist notwendig, da 6-OHDA analog zu Dopamin die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden kann.

3 Fragestellungen und Zielsetzungen

3.1 Führt eine bilaterale Läsion der SNpc durch 6-OHDA in Mäusen zu einem relevanten Parkinson-Modell?

Bisherige 6-OHDA-Tiermodelle konzentrierten sich auf eine striatale Toxininjektion bei Ratten (Branchi et al., 2008; Tadaiesky et al., 2008; Braun et al., 2012) oder Mäusen (de Leonibus et al., 2007; Bonita-Oliva et al., 2014) mit konsekutiver subakuter Degeneration der dopaminergen Neurone der SNpc, bzw. auf eine unilaterale nigrale Injektion in Ratten, die konsekutiv eine akute Verarmung dopaminerge Nerven im Striatum zur Folge hat (Ferro et al., 2005; Pioli et al., 2008). Die intranigrale Injektion hat gegenüber der intrastriatalen Injektion den Vorteil einer ausgeprägteren Läsion. Wegen des geringen Volumens der SNpc bei Mäusen wurde das intranigrale 6-OHDA-Modell bei Mäusen aber bislang nur selten eingesetzt (Alvarez-Fischer et al., 2007). Insbesondere eine bilaterale Läsion wurde bislang wegen der technischen Herausforderung bei der Maus noch nicht beschrieben. Für die Modellierung einer ausgeprägten bilateralen Dopamin-Depletion strebten wir hier die Entwicklung eines bilateralen intranigralen 6-OHDA-Modells der Maus an.

3.2 Führt eine chronische bilaterale dopaminerge Denervierung zu Parkinson-typischen nicht-motorischen Symptomen?

Es ist bislang nicht vollständig klar, ob nicht-motorische Parkinson-Symptome als Folge einer Dopamin-Depletion entstehen oder als Folge nicht-dopaminerge Degenerationen. Sollte eine Dopamin-Depletion ursächlich sein, stellt sich weiterhin die Frage, ob unmittelbare pharmakologische Effekte oder indirekte, strukturelle Adaptationsvorgänge mit einer gewissen Latenz zu den nicht-motorischen Symptomen führen.

Aus der Breite nicht-motorischer Begleitsymptome des IPS fokussierten wir zwei Kategorien:

Einerseits untersuchten wir Depression und Ängstlichkeit, welche in Tierversuchen im Forced Swim Test und im Social Interaction Test erfasst werden können (Ho et al., 2002).

Andererseits untersuchten wir das visuell-räumliche Gedächtnis, welches in Tiermodellen durch das Morris Water Maze oder den Novel Object Recognition Test erfasst werden kann (Vorhees et al., 2006; Antunes et al., 2012).

3.3 Kann eine dopaminerge Langzeit-Substitutionstherapie der Entstehung nicht-motorischer Symptome vorbeugen bzw. ihre Ausprägung lindern?

Wenn nach 6-OHDA Läsion entsprechend der Fragestellung 3.2. NMS zu beobachten sind, läge eine dopaminerge Ursache derselben nahe, aber andere, z.B. durch unbekannte Kollateralschäden der Läsion entstandene Ursachen, wären denkbar. Um diese Möglichkeit auszuschließen, untersuchten wir parallel unlädierte und lädierte Tiere, welche kontinuierlich eine dopaminerge Substitutionstherapie mit L-Dopa bzw. PPX erhielten.

Im Fall einer positiven Entwicklung unter Medikation würde dies ggf. die Initiierung einer dopaminergen Therapie in den frühesten Stadien der Parkinson-Krankheit, also bereits vor Auftreten der motorischen Symptome, rechtfertigen.

II Material und Methoden

1 Übersicht und Zeitplan

Sämtliche Tierexperimente fanden unter Genehmigung des Regierungspräsidiums Gießen (Dezernat V 54 – Veterinärwesen) nach § 8 Abs. 2 des Tierschutzgesetzes (TSchG) statt. Die rechtliche Grundlage bildeten das TSchG in der Fassung der Bekanntmachung vom 25. Mai 1998 (BGBl. I, S. 1105) zuletzt geändert durch Art. 153 V vom 25.11.2003 I 2304 sowie die Allgemeine Verwaltungsvorschrift zur Durchführung des TSchG vom 09.02.2000 (Bundesanzeiger vom 20.02.2000, Nr. 36a). Der Inhalt des EU Council Directive 86/609/EEC vom 24.11.1986 fand ebenso Anwendung.

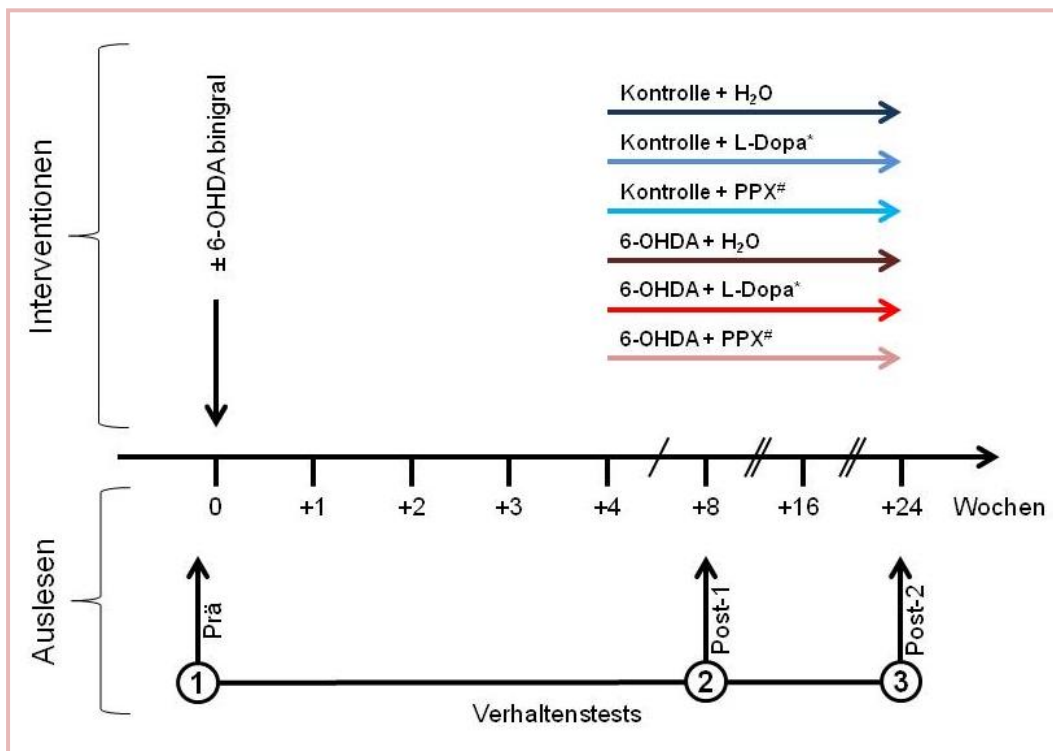


Abb. 3: Zeitplan des Studiendesigns (eigene Darstellung)

Abk.: H₂O = Wasser; L-Dopa = Levodopa (* = 100 mg/kg/d); PPX = Pramipexol (# = 3 mg/kg/d); mg = Milligramm; kg = Kilogramm; d = Tag

Wir verwendeten 12 Wochen alte männliche Mäuse vom Stamm C57Bl6 (Bezug der Tiere über Charles River, Sulzfeld), die zu Beginn der Experimente alle zwischen 20 und 25 Gramm wogen. Die Tiere wurden in der örtlichen Tierhaltung des Biomedizinischen Forschungszentrums der Philipps-Universität

Marburg in temperaturkontrollierten Räumen ($23\pm1^{\circ}\text{C}$) bei einem 12-stündlichen Hell-Dunkel-Rhythmus zu viert pro Käfig gehalten. Zu Futter und Trinkwasser hatten die Tiere freien Zugang (Ausnahmen s. **Kap. II/3 Dopaminerge Therapie**).

Das experimentelle Design ist in **Abb. 3** aufgezeigt. Nach Anlieferung der Versuchstiere wurde diesen zunächst eine Habituationsphase von einer Woche gewährt. Vor Durchführen der Operation durchliefen alle Versuchstiere die grundlegenden Verhaltenstests im Bereich der Motorik sowie des Stimmungsverhaltens. Die Gedächtnisfunktionen wurden nur an zwei postoperativen Zeitpunkten getestet (Details s. **Kap. III/6**). Sowohl die Einteilung in Gruppen von vier Tieren pro Käfig als auch die Zuteilung der einzelnen Tiere zu eine der sechs Versuchsgruppen fand zufällig statt. Die Gruppen unterteilten sich (a) in die scheinläderten, nicht behandelten Kontrolltiere („Kontrolle + H_2O “), (b) die scheinläderten, mit Levodopa behandelten Tiere („Kontrolle + L-Dopa“), (c) die scheinläderten, mit PPX behandelten Kontrollen („Kontrolle + PPX“) und bei den 6-OHDA-läderten Mäusen in (d) die ohne medikamentöse Behandlung („6-OHDA + H_2O “) sowie (e) die unter Levodopa-Therapie („6-OHDA + L-Dopa“) und (f) PPX-Therapie stehenden Tiere („6-OHDA + PPX“).

	KG	RR	FST	SIT	MWM	NORT
Kontrolle + H_2O	13	13	13	13	13	11
Kontrolle + L-Dopa	11	11	11	11	11	10
Kontrolle + PPX	12	12	12	12	12	12
6-OHDA + H_2O	8	8	8	8	8	8
6-OHDA + L-Dopa	8	6	8	8	8	8
6-OHDA + PPX	12	9	12	12	12	12

Tab. 2: Anzahl untersuchter Versuchstiere pro Gruppe.

Abk.: **KG** = Körpergewicht; **RR** = Rotarod; **FST** = Forced Swim Test; **SIT** = Social Interaction Test; **MWM** = Morris Water Maze; **NORT** = Novel Object Recognition Test

Entsprechend dieser Einteilung erhielten die Tiere nun entweder eine intranigrale Läsion mit 6-OHDA oder eine Scheinoperation. Acht und 24 Wochen nach der binigralen Läsion führten wir erneut den Rotarod-Test, Forced Swim Test, Social Interaction Test, Novel Object Recognition Test sowie das Morris Water Maze durch. **Tab. 2** zeigt die Anzahl der Tiere pro Gruppe, die die Verhaltenstests erfolgreich abgeschlossen haben.

2 Das bilaterale 6-OHDA-Maus-Modell des IPS

Um eine Dopaminverarmung des Striatums zu induzieren, wurden die Tiere durch die beidseitige Injektion von 6-OHDA in die SNpc lädiert.

Vor der 6-OHDA-Läsion erhielt jede Maus eine intraperitoneale Injektion von 25 mg/kg Körpergewicht (KG) Desipramin (verdünnt mit NaCl 0,9% auf 2,5 mg/ml; Hersteller: Sigma-Aldrich, München), um noradrenerge Neurone und Axone zu schützen (Martin et al., 1976). Nach einer Wartezeit von 20 Minuten wurde eine ebenfalls durch intraperitoneale Injektion stattfindende Narkose eingeleitet. Zur Anästhesie verwendeten wir eine Mischung aus 1-%igem Ketamin (Hersteller: Bela-Pharm, Vechta) und 0,2-%igem Xylazin (Hersteller: Bayer HealthCare, Leverkusen) in einer Dosierung von 10 ml/kg KG.

Zunächst wurde der Kopf der Versuchstiere in einem stereotaktischen Rahmen (David Kopf Instruments, Tujunga, USA) eingespannt. Es folgte nach Rasur und Desinfektion die Spaltung der Kopfhaut in einem medialen Sagittalschnitt von ca. 1,5 cm Länge mittels Skalpells. Nach einer dreidimensionalen Kalibrierung des Kopfes wurde zunächst eine Koordinate 2,9 mm posterior und 0,8 mm lateral des Bregma auf dem Schädelknochen markiert und dieser schließlich an betreffender Koordinate mit einem feinen Bohrer bis zum Erreichen der Dura mater eröffnet. Die verwendeten 33G-Nadeln (Hersteller: Hamilton, Bonaduz, Schweiz) wurden ab dem Dura-Niveau um weitere 4,5 mm nach ventral geführt, so dass die Region der Substantia nigra, pars compacta (SNpc), erreicht wurde (s. **Abb. 4**; Paxinos et al., 2001). Nun injizierten wir 2 µl der vorbereiteten 6-OHDA-Lösung (Hersteller: Sigma-Aldrich, München; Dosierung: 2 µg/µl in 0,9% NaCl mit Zusatz von 0,2% Vitamin C) in einer Geschwindigkeitsrate von 0,5 µl/min über Mikropumpen (Hersteller: World Precision Instruments, Sarasota,

USA). Bei den Kontrolltieren wurde im Rahmen der Scheinoperation lediglich NaCl 0,9% in gleicher Menge verabreicht. Nach Injektion wurde vor dem vorsichtigen Entfernen der Nadel eine fünfminütige Pause eingehalten, um die regelrechte Diffusion des Wirkstoffes zu ermöglichen. Ebenso wurde auf der kontralateralen Seite vorgegangen. Schließlich folgten die Wundnaht mittels Faden und eine Entzündungsprophylaxe mit Betaisadona-Salbe.

Die Narkose der Tiere wurde anschließend engmaschig kontrolliert, der Wärmehaushalt bis zum vollständigen Erwachen fand durch Infrarot-Lampen statt.

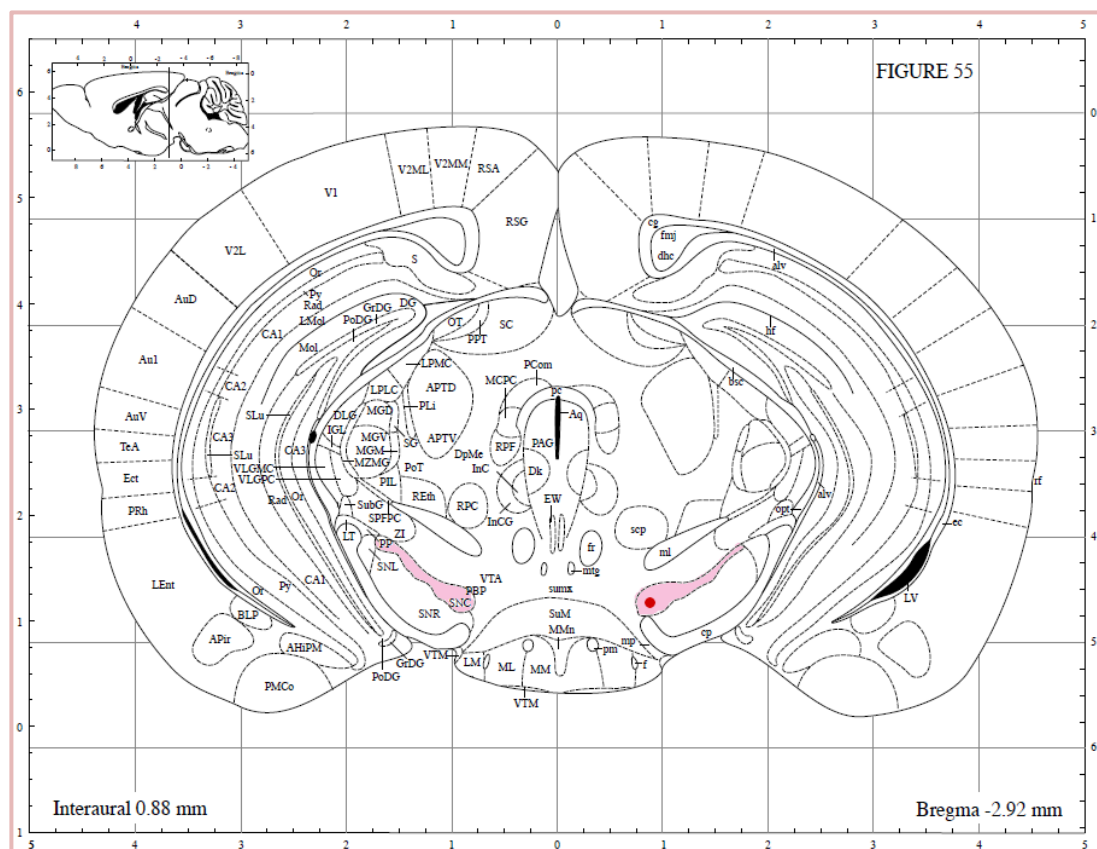


Abb. 4: Schnittebene der 6-OHDA-Läsion im Maushirn. (Mod. nach: Paxinos et al., 2001)

Rosa: Substantia nigra pars compacta. **Roter Punkt:** Injektionsort.

3 Dopaminerge Therapie

In Vorversuchen wurde Mäusen über einen Zeitraum von 14 Tagen PPX in drei verschiedenen Testdosierungen (0,3 mg/kg KG, 1 mg/kg KG, 3 mg/kg KG) zweimal täglich intraperitoneal verabreicht. Dieser Weg der Applikationsform wurde verlassen, da die Tiere bei wiederholten intraperitonealen Injektionen schnell zu Aggressionen neigten, was wiederum Einfluss auf die Verhaltenstests hätte haben können.

Wir entschieden uns daher zur dopaminergen Therapie der Tiere per os. Nach der Operation wurde den Mäusen für vier Wochen zunächst die Möglichkeit zur Regeneration gegeben. Wie Voruntersuchungen zeigten erreicht während dieser Phase die Läsion des nigrostriatalen Systems ein stabiles Niveau (Alvarez-Fischer et al., 2007). Um eine dem Menschen ähnliche zirkadiane Applikation zu erreichen, wurden die Tiere in den folgenden 20 Wochen tagsüber wasserdepriviert (07:00 Uhr bis 19:00 Uhr), während Ihnen in ihrer nachtaktiven Phase (19:00 Uhr bis 07:00 Uhr) das mit den Wirkstoffen versetzte Trinkwasser ad libitum zur Verfügung stand. Als Dosierungen wählten wir für PPX (Fa. Sigma-Aldrich) 0,03 mg/ml, für L-Dopa (Fa. Sigma-Aldrich) 1 mg/ml mit dem Zusatz von 0,25 mg/ml Benserazid zur Vermeidung einer peripheren Metabolisierung von L-Dopa, die Kontrollgruppen erhielten normales Trinkwasser. Bei einer durchschnittlichen Trinkmenge von circa drei Millilitern Wasser täglich konsumierten die Versuchstiere somit durchschnittlich 3 mg/kg KG PPX bzw. 100 mg/kg KG L-Dopa pro Tag. Diese Dosen wurden aufgrund der vorab publizierten biologischen Wirksamkeit gewählt (Höglinger et al., 2004; Winner et al., 2009; Depboylu et al., 2013).

4 Rotarod

Der Rotarod-Apparat (Fa. TSE Systems, Rotarod advance; s. **Abb. 5**) besteht aus einer rotierenden Röhre, deren Oberfläche geriffelt hergestellt wurde, um den Versuchstieren einen besseren Halt zu ermöglichen. Trennwände unterteilen die Röhre in vier blickdicht voneinander separierte Versuchskammern.

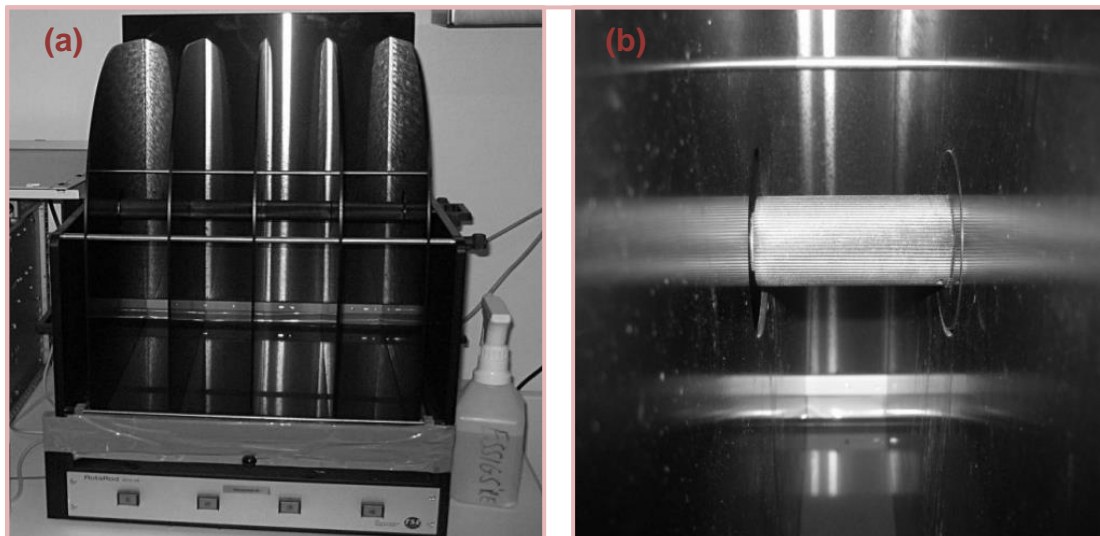


Abb. 5: Vier-Kammer-Rotarod-Apparat.

(a) Ansicht von vorne; **(b)** Detailansicht einer Kammer mit Laufrad

Die Tiere wurden zu Beginn des Versuches auf die bereits rotierende Stange platziert. Sobald sie Halt gefunden hatten startete das Experiment für die individuelle Testkammer manuell. Rutschte eine Maus von der Stange herab, so durchfiel sie nach circa 15 Zentimetern eine Lichtschranke, die die Versuchszeit automatisch in der angeschlossenen Software des Computers stoppte. Die konstante Rotationsgeschwindigkeit lag bei 6 Umdrehungen pro Minute, es sollte von jeder Maus eine kontinuierliche Versuchszeit auf der Teströhre von 120 Sekunden erreicht werden, wozu maximal 6 Versuche zur Verfügung standen.

Zwischen dem Testen zwei verschiedener Mäuse wurden die Kammern mittels einer essigsäurehaltigen Lösung gereinigt, um eine Beeinflussung durch Gerüche anderer Tiere zu vermeiden.

5 Forced Swim Test (FST)

Beim FST (s. **Abb. 6**) wurden die bis zu viert parallel getesteten Mäuse in einen durchsichtigen Glaszylinder von circa 15 Zentimetern Durchmesser sowie 24 Zentimeter Höhe in 23 ± 2 °C warmes Wasser gesetzt (Füllhöhe 13 cm). Anschließend wurde das Schwimmverhalten der Tiere bei einer

standardisierten Beleuchtung von 1-2 Lux für sechs Minuten mittels Videokameras aufgezeichnet und parallel bezüglich der Parameter „Floating“ und „Struggling“ („Treiben“ und „Strampeln“) ausgewertet (Software der Fa. Biobserve Viewer, Bonn). Eine Zunahme der „Treib-Zeit“ wurde als depressionsähnlicher Faktor betrachtet.

Nach Beenden des Versuches wurden die Tiere manuell getrocknet und für wenigstens 30 Minuten zum Wärmehalt unter einer Infrarotlampe gehalten.

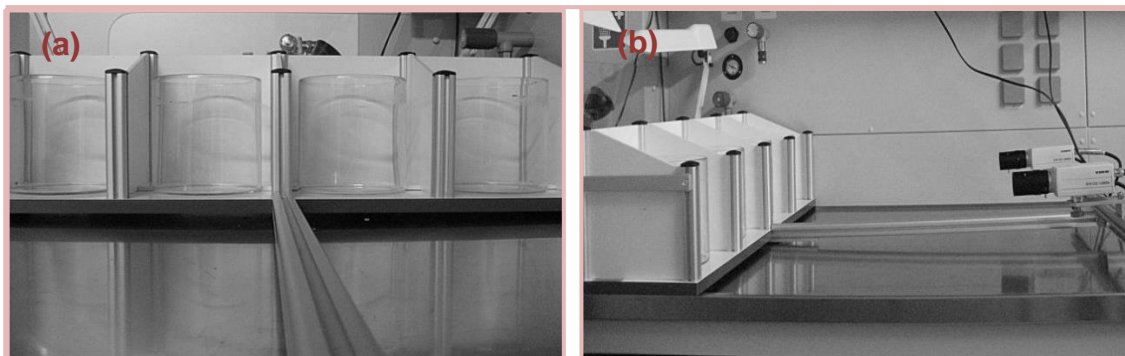


Abb. 6: Forced Swim Test.

(a) Testanlage aus Kameraperspektive; **(b)** Seitenansicht

6 Social Interaction Test (SIT)

Im SIT (s. **Abb. 7**) wurden zwei nicht familiäre, also aus unterschiedlichen Käfigen stammende, Tiere für eine Testzeit von 30 Minuten in einer Offen-Feld-Anlage von 50 x 40 x 50 cm Größe (B x H x T)³ zusammen geführt. Dabei wurde immer eine lädierte Maus einer Kontrollmaus gegenübergestellt. Erneut fand eine Auswertung des Verhaltens mittels Kameras und Softwareauswertung (Fa. Biobserve Viewer, Bonn) unter einer Beleuchtungsstärke von 2,2 – 2,5 Lux bei $21 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ Raumtemperatur statt.

Um die Tiere voneinander unterscheiden zu können wurde zunächst das Kontrolltier in die Arena gesetzt, dann folgte das lädierte Tier. Erst dann startete der Versuch. Zur Beobachtung der sozialen Interaktion dienten die Parameter Frontal-Kontakt sowie anogenitaler Kontakt. Nach jedem Versuch erfolgte die Reinigung der Anlage mit 0,1-prozentiger Essigsäure.

³ B x H x T = Breite x Höhe x Tiefe

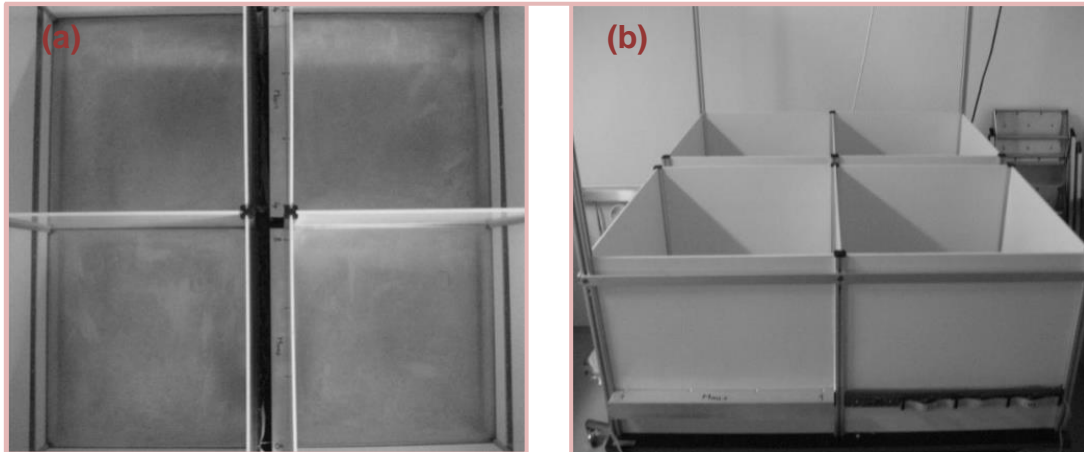


Abb. 7: Social Interaction Test.

(a) Ansicht aus Kamera-Perspektive; **(b)** Außenansicht

7 Morris Water Maze Test (MWM)

Das verwendete MWM-Becken hatte einen Durchmesser von 120 cm und war bis auf eine Höhe von 40 Zentimetern mit Wasser gefüllt. Unter der Wasseroberfläche befand sich eine unsichtbare, aus Schaumstoff bestehende, im Durchmesser 14 cm messende Plattform. Um einen für die Kamera ersichtlichen Kontrast zwischen dem schwarzen Becken und den Black-6-Mäusen zu schaffen wurde das Wasser mit Kaffeeweißer milchig getrübt. Die Wassertemperatur konnte dank einer in den Boden eingelassenen Heizspirale konstant auf $23 \pm 2^\circ\text{C}$ gehalten werden. Wir teilten das MWM gedanklich in vier Quadranten (s. **Abb. 8**), an deren äußeren Überschneidungspunkten je ein in Farbe und Form unterschiedliches Objekt zur räumlichen Orientierung der Tiere angebracht war.

Jeder Testlauf bestand aus vier Durchgängen. Dabei wurde in randomisierter Form aus je einem der Quadranten das Tier vom Rand in das Becken gesetzt und der Versuch per Fernbedienung gestartet. Aus jedem Quadrant heraus hatte das Versuchstier eine Minute Zeit die Plattform zu finden. Wurde nach dieser abgelaufenen Versuchszeit die Plattform nicht erreicht, so platzierten wir das Tier für 30 Sekunden auf der Plattform, um ein Lernverhalten zu fördern. Zur Beurteilung eines Lerneffektes führten wir den MWM-Test an drei

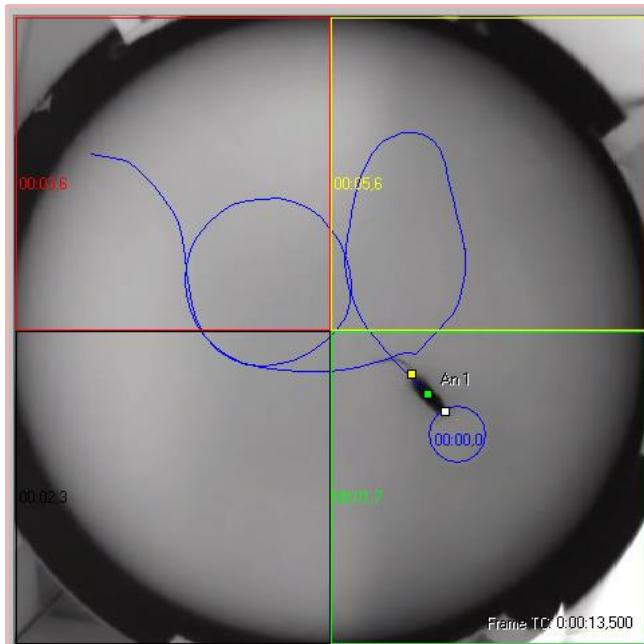


Abb. 8: Morris Water Maze.

Beispielhafte Darstellung der Suche der unter der Wasseroberfläche befindlichen Plattform, beginnend im Quadranten gegenüber.

aufeinander folgenden Tagen durch. In jedem Versuchszyklus wurde die Plattform in einem neuen Quadranten platziert.

Als Messparameter dienten die Zeit bis zum Auffinden der Plattform (=Latenzzeit) sowie die bis dahin zurückgelegte Wegstrecke. Wie in den anderen Verhaltenstests wurde der Versuch mittels Videokamera aufgezeichnet und am Computer ausgewertet (Software Fa. Biobserve Viewer, Bonn).

8 Novel Object Recognition Test (NORT)

Vor dem NORT wurden die Tiere in ihren Käfigen in das Versuchslabor transportiert, wo sie bis zum Beginn der Versuche verblieben. Es wurde die gleiche Offen-Feld-Anlage wie beim SIT verwendet. Entsprechend erfolgten die Videoaufnahmen (Software Fa. Biobserve Viewer, Bonn) auch bei standardisierter Lichtintensität (Messpunkt immer in der Mitte der Arena) sowie nach der Reinigung mit 0,1%iger Essigsäure vor dem Test mit einem neuen Versuchstier.

Der Versuch gliederte sich in drei Phasen über zwei Tage. In der zuerst erfolgenden Habituationsphase wurde dem Testtier für eine Explorationszeit von fünf Minuten zunächst die Gelegenheit gegeben sich mit der Arena vertraut zu machen. Dann erfolgte eine Abtrennung eines Teilbereiches der Arena mit einer Trennwand, um zwei identische runde Objekte mithilfe einer Schablone platzieren zu können und somit die Explorationszeit in allen vier Quadranten für die Tiere gleich zu halten.

Nach Entfernen der Trennwände schloss sich die fünfminütige Gewöhnungsphase an, während derer eine Familiarisierung mit den beiden Objekten stattfinden sollte. Nach 24 Stunden wurde der dritte Teil der Untersuchung, die eigentliche Testphase, durchgeführt. In dieser wurden dem Versuchstier das vertraute und ein neues Objekt über eine Dauer weiterer fünf Minuten präsentiert.

Die Objekte variierten in jeder Versuchsreihe entsprechend untenstehender Tabelle, um eine Familiarisierung mit einem Objekt zu vermeiden.

PHASE	MATERIAL	FARBE	HÖHE	DURCHMESSER
Prä-OP	Glas	Silber	5,5 cm	6,9 cm
	Eisen	Grau	6,2 cm	4,8 cm
Post-1	Glas	Türkis	5,2 cm	6,0 cm
	Glas	Orange	4,5 cm	6,0 cm
Post-2	Keramik	Grün	6,1 cm	7,4 cm
	Glas	Klar	5,5 cm	7,5 cm

Tab. 3: Verwendete Objekte im NORT.

Familiäres Objekt jeweils in oberer Zeile.

Zur Auswertung der erhobenen Daten wurden im Computer um die jeweiligen Objekte runde Zonen in einer Distanz von 2 Zentimetern ab Objektrand definiert, weiterhin fand eine Vierteilung des offenen Feldes statt. Mithilfe der Software konnten wir so die Kontaktzeit der Versuchstiere mit den jeweiligen Objekten ermitteln. Als weiterer Parameter wurde die durchschnittlich zurückgelegte Strecke erhoben. Die Messung des Aufrichtverhaltens der Tiere konnte wegen Interferenzen zwischen den Infrarot-Sensoren und den spiegelnden Objekten nicht vorgenommen werden.

9 Statistische Analyse

Zur statistischen Analyse wurde die Software Prism 5.0c (GraphPad Software, San Diego, USA) verwendet. Die gezeigten Daten werden als Mittelwert \pm Standardfehler angegeben. Einem zweifaktoriellen ANOVA-Test folgte ein post-hoc Bonferroni-Test. P-Werte kleiner als 0,05 wurden als statistisch signifikant angenommen.

III ERGEBNISSE

1 Histologische Vorarbeiten

Wie eingangs bereits erwähnt fand die Publikation des Effekts der bilateralen 6-OHDA-Läsion und der Langzeitbehandlung mit L-Dopa oder PPX auf die nigrostriatale Projektion bereits im Vorfeld statt (Depboylu et al., 2013; Chiu et al., 2015).

Dort beschrieben wurde eine subtotale Läsion der SN mit einem Verlust dopaminerger Neurone von mehr als 85% sowie eine Verminderung der dopaminergen Fasern im Striatum von über 70% bei allen lädierten Versuchstieren, unabhängig der Art ihrer Behandlung mit H₂O, L-Dopa oder PPX. Der induzierte Zelluntergang dopaminerger Neurone im Bereich der nigralen Injektionsstelle betraf vorwiegend den Bereich der SNpc. Die neuronale Population in der benachbarten Area tegmentalis ventralis (VTA) und deren Projektion zum Nucleus Accumbens wurde weitgehend ausgespart.

2 Einfluss dopaminerger Langzeittherapie auf das Körpergewicht

Ein besonderer Fokus unserer täglichen Arbeit mit den Versuchstieren lag in der Kontrolle ihres Körpergewichtes, da in der Literatur (z. B. Ungerstedt 1971) nach ausgeprägter Läsion der mesenzephalen dopaminerger Neurone durch 6-OHDA eine passagere Aphagie sowie Adipsie beschrieben waren, die teils letal enden und daher mit einem erhöhten Pflegeaufwand der betroffenen Mäuse verbunden waren.

Präoperativ zeigte sich keinerlei Unterschied im Körpergewicht der sechs Versuchsgruppen (s. **Abb. 9**). Vier Wochen nach Beginn der medikamentösen Therapie (Post-1) wiesen die mit L-Dopa oder PPX oralisierten Kontrolltiere ein signifikant geringeres Gewicht auf (Kontrolle + H₂O: 32,0 ± 0,8 g; Kontrolle + L-Dopa: 28,2 ± 0,8 g; Kontrolle + PPX: 28,5 ± 0,7 g). Nach 20 Wochen der Behandlungsphase (Post-2) zeigten nur noch die PPX-Kontrolltiere ein signifikant niedrigeres Gewicht (Kontrolle + H₂O: 33,8 ± 0,9 g; Kontrolle + L-

Dopa: $31,4 \pm 1,0$ g; Kontrolle + PPX: $30,1 \pm 0,9$ g). Unter den lädierten Mäusen konnte ein ausgeprägter Unterschied des Körpergewichtes nur in der PPX-Gruppe zu den Zeitpunkten Post-1 (6-OHDA + PPX: $28,7 \pm 0,6$ g) und Post-2 (6-OHDA + PPX: $30,3 \pm 0,6$ g) nachgewiesen werden. Generell nahm das Körpergewicht über alle Versuchsgruppen hinweg deutlich im Gegensatz zum präoperativen Wert zu.

Die dem zugrundeliegende allenfalls moderate Beeinträchtigung der Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme stützt die in der Literatur beschriebene Beobachtung, dass eine räumlich umschriebene Depletion dopaminerge Neurone der SNpc unter Aussparung der VTA, wie in unserem Beispiel erfolgt, sich in dieser Hinsicht als besonders günstig erweist (Narayanan et al., 2010).

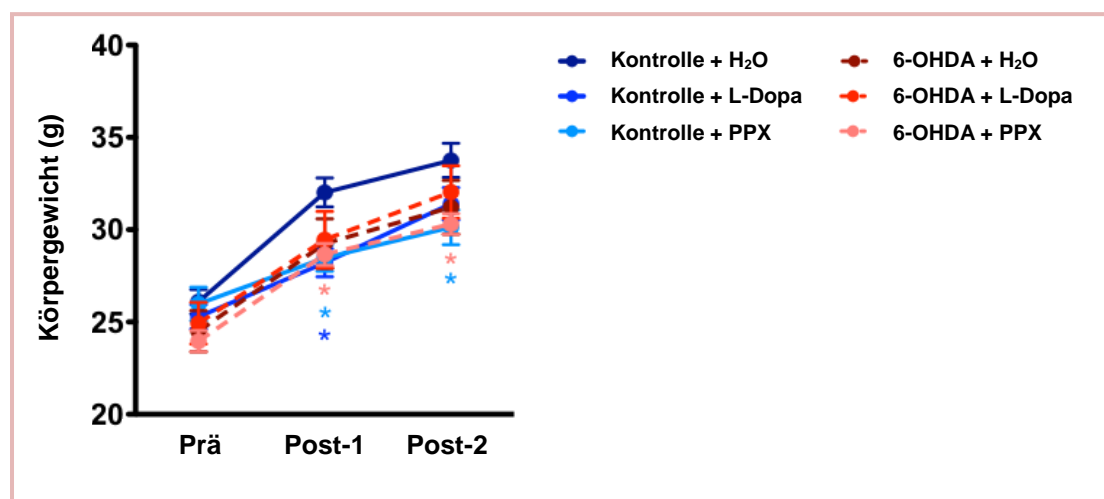


Abb. 9: Körpergewicht in den einzelnen Versuchsgruppen.

* $p < 0,05$ verglichen mit Kontrollgruppe ohne Behandlung (zweifaktorielle ANOVA-Test, post-hoc Bonferroni-Test).

Abk.: g = Gramm; H₂O = Wasser; L-Dopa = Levodopa; PPX = Pramipexol; 6-OHDA = 6-Hydroxydopamin

Quelle: adaptiert nach Chiu WH et al., 2015.

3 Effekte der Therapie mit L-Dopa oder PPX auf die Motorik

Die motorischen Funktionen wurden grundlegend im Rotarod-Test dokumentiert. Den H₂O-verabreichten Kontrollmäusen war es möglich sich während der vollen Dauer der 120-sekündlichen Testzeit auf dem sich drehenden Balken zu halten. Wie in **Abb. 10** ersichtlich ist, änderte die Therapie unter L-Dopa oder PPX nichts an diesem Bewegungsverhalten zu den beiden postoperativen Testpunkten nach 4 (Post-1) und 20 (Post-2) Wochen unter Medikation. Zum Zeitpunkt Post-1 zeigte sich eine signifikant kürzere Aufenthaltsdauer der lädierten Gruppen im Rotarod im Vergleich zur Kontrollgruppe (6-OHDA + H₂O: 99,8 ± 13,9 s vs. Kontrolle + H₂O: 120,0 s). Die unter dopaminerger Therapie stehenden lädierten Tiere verrichteten den Motoriktest im Rotarod nicht signifikant schlechter als die Kontrollgruppe.

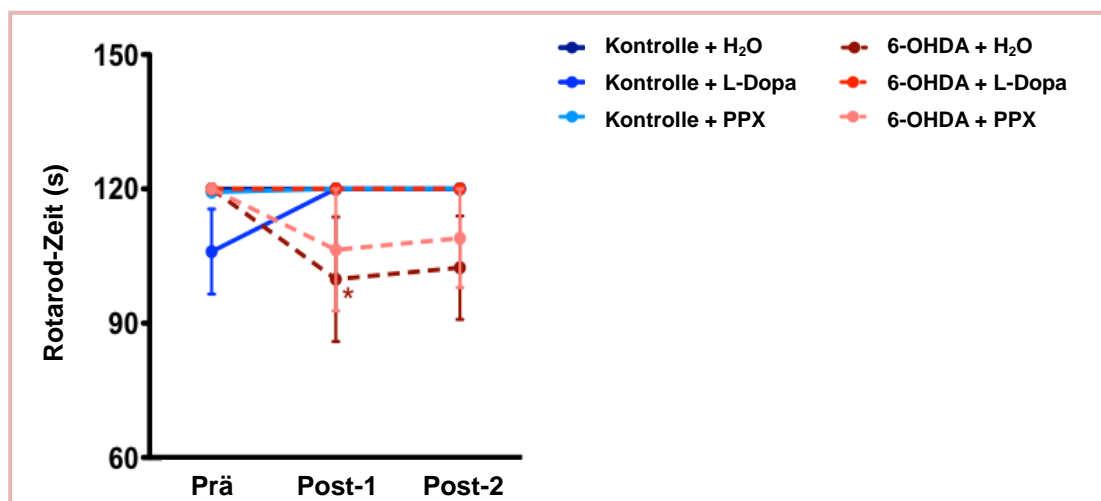


Abb. 10: Durchschnittliche Aufenthaltszeit der Versuchgruppen im Rotarod.

* $p < 0,05$ verglichen mit Kontrollgruppe ohne Behandlung (zweifaktorielle ANOVA-Test, post-hoc Bonferroni-Test).

Abk.: s = Sekunden; H₂O = Wasser; L-Dopa = Levodopa; PPX = Pramipexol; 6-OHDA = 6-Hydroxydopamin

Quelle: adaptiert nach Chiu WH et al., 2015.

4 Forced Swim Test: L-Dopa und PPX verringern das Treibenlassen und steigern das Strampeln

Die Ergebnisse des FST sind in **Abb. 11** dargestellt. Die beiden Kontrollparameter des Treibenlassens („floating“, s. **Abb. 11 (a)**) sowie des Strampelns („struggling“, s. **Abb. 11 (b)**) werden prozentual im Bezug auf den individuellen präoperativen Wert der Testtiere dargestellt.

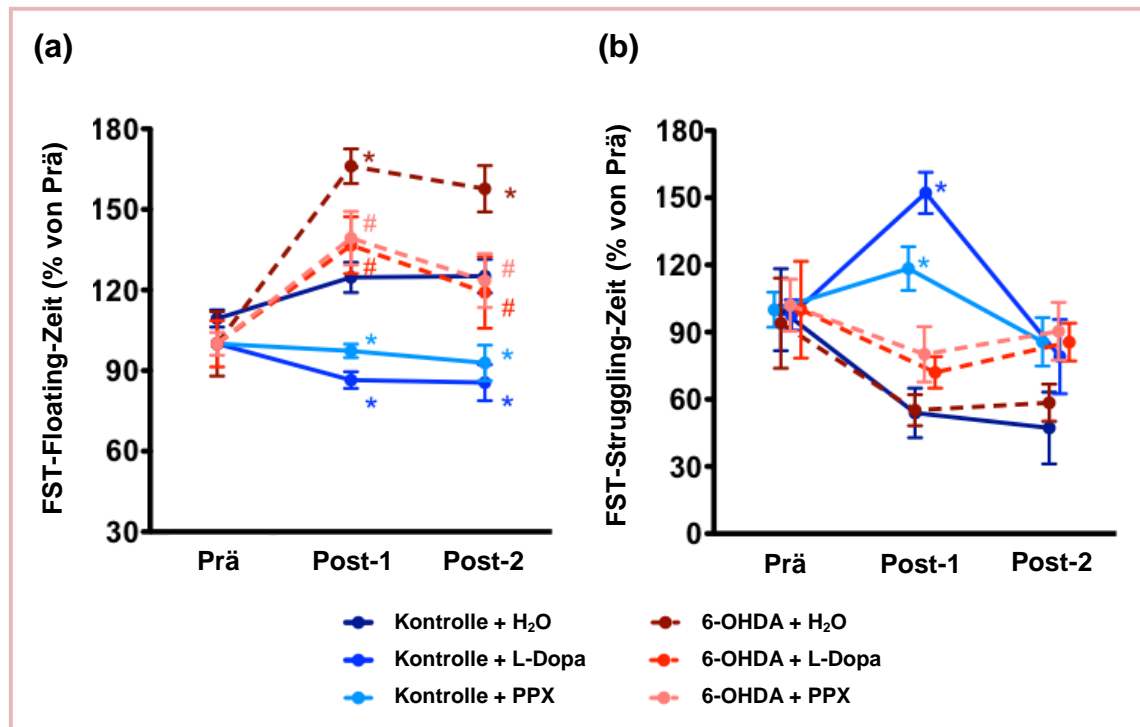


Abb. 11: (a) Prozentuale FST-Floating-Zeit, (b) Prozentuale FST-Struggling-Zeit.

*p<0,05 verglichen mit Kontrollgruppe ohne Behandlung. #p<0,05 verglichen mit 6-OHDA ohne Behandlung (zweifaktorieller ANOVA-Test, post-hoc Bonferroni-Test).

Abk.: FST = Forced Swim Test; H₂O = Wasser; L-Dopa = Levodopa; PPX = Pramipexol; 6-OHDA = 6-Hydroxydopamin

Quelle: adaptiert nach Chiu WH et al., 2015.

Wie in der Graphik verdeutlicht ist, nahm die Floating Time in der lädierten aber nicht therapierten Versuchsgruppe (6-OHDA + H₂O) zu beiden postoperativen Testpunkten signifikant zu. Im direkten Vergleich zu den nicht lädierten H₂O-Mäusen (Kontrolle + H₂O: 124,7 ± 5,6%) betrug das Treibenlassen 166,1 ± 6,4% zum Zeitpunkt Post-1 sowie 157,7 ± 8,6% zum Zeitpunkt Post-2 (Kontrolle + H₂O: 125,2 ± 6,3%). Unter Medikation durch L-Dopa oder PPX zeigten die 6-OHDA-operierten Versuchstiere eine deutlich verringerte Floating-Zeit (Post-1: 6-OHDA + L-Dopa: 136,7 ± 10,6%; 6-OHDA + PPX: 139,3 ± 10,0%; Post-2: 6-

OHDA + L-Dopa: $119,1 \pm 13,4\%$; 6-OHDA + PPX: $123,5 \pm 10,0\%$). Interessanterweise reduzierte die dopaminerge Therapie das Treibverhalten ebenso bei den scheinoperierten Tieren zu beiden Zeitpunkten (Post-1: Kontrolle + L-Dopa: $86,5 \pm 3,1\%$; Kontrolle + PPX: $97,4 \pm 2,5\%$; Post-2: Kontrolle + L-Dopa: $85,5 \pm 6,7\%$; Kontrolle + PPX: $92,9 \pm 6,6\%$).

Hinsichtlich des Strugglings kam es infolge der dopaminergen Stimulation durch L-Dopa oder PPX zu vermehrter Aktivität unter den scheinoperierten Tieren im direkten Vergleich zur Kontrolle + H₂O-Gruppe zum Zeitpunkt Post-1 (Kontrolle + L-Dopa: $160,2 \pm 9,2\%$; Kontrolle + PPX: $118,4 \pm 9,8\%$; Kontrolle + H₂O: $53,9 \pm 11,1\%$). Zum Zeitpunkt Post-2 konnte dieser Effekt nicht mehr beobachtet werden (Kontrolle + L-Dopa: $87,0 \pm 16,6\%$; Kontrolle + PPX: $85,7 \pm 10,8\%$; Kontrolle + H₂O: $47,2 \pm 16,1\%$). Unter den lädierten Tieren zeigte sich kein signifikanter Unterschied in den verschiedenen Zeitpunkten der Verhaltenstests im Vergleich zu den Kontrollgruppen, weder unter H₂O- noch unter L-Dopa oder PPX-Therapie.

5 Social Interaction Test: die Langzeittherapie mit PPX steigert die Kontaktzeit, während L-Dopa sie senkt

Abb. 12 zeigt die Ergebnisse des SIT hinsichtlich der drei untersuchten Parameter der gesamten (s. **Abb. 12 (a)**), der frontal erfolgenden (s. **Abb. 12 (b)**), sowie der anogenitalen Kontaktzeit (s. **Abb. 12 (c)**). Dabei wurde je ein gesundes Versuchstier einem lädierten unmittelbar gegenübergestellt und die Ergebnisse als Prozentzahl in Relation zum präoperativen Ausgangswert normiert. Der SIT wurde gewählt, um den Gemütsstatus hinsichtlich eines möglichen depressiven oder ängstlichen Verhaltens in dieser Studie dokumentieren zu können.

Generell verbrachten die lädierten Tiere im Vergleich zu einer gesunden Kontrollmaus in beiden postoperativen Versuchspunkten (Post-1 und Post-2) weniger Zeit mit Kontaktaufnahmen. Unter Therapie mit L-Dopa reduzierte sich die Gesamtkontaktzeit bei den Kontrolltieren sowohl in Post-1 als auch in Post-2 (Post-1: Kontrolle + H₂O: $169,4 \pm 14,4\%$; Kontrolle + L-Dopa: $100,6 \pm 8,4\%$; Post-2: Kontrolle + H₂O: $120,1 \pm 14,3\%$; Kontrolle + L-Dopa: $63,4 \pm 6,0\%$). Im

Vergleich zwischen den unter dopaminerger Medikation stehenden Kontrollgruppen fiel eine signifikant höhere Kontaktzeit von ca. 60% der PPX- gegenüber den L-Dopa-behandelten Tieren zum Zeitpunkt Post-1 auf (Kontrolle + PPX: $158,6 \pm 14,6\%$). Weniger ausgeprägt, aber weiterhin signifikant, stellte sich dieser Unterschied auch zum Zeitpunkt Post-2 dar (Kontrolle + PPX: $126,2 \pm 14,7\%$).

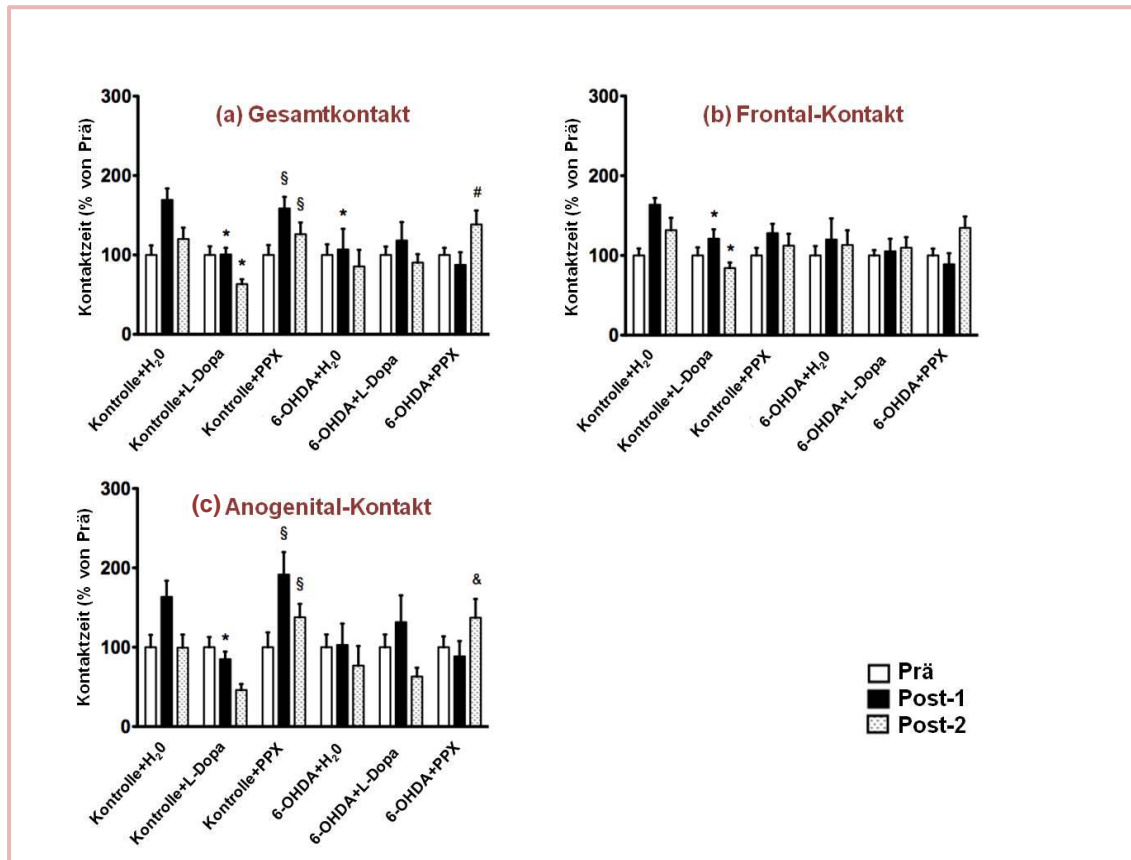


Abb. 12: (a) Gesamtkontaktzeit im SIT, (b) Frontale Kontaktzeit im SIT, (c) Anogenitale Kontaktzeit im SIT.

* $p < 0,05$ verglichen mit Kontrolle+H₂O. # $p < 0,05$ verglichen mit 6-OHDA+H₂O. § $p < 0,05$ verglichen mit Kontrolle+L-Dopa. & $p < 0,05$ verglichen mit 6-OHDA+L-Dopa (zweifaktorielle ANOVA-Test, post-hoc Bonferroni-Test).

Abk.: **SIT** = Social Interaction Test; **H₂O** = Wasser; **L-Dopa** = Levodopa; **PPX** = Pramipexol; **6-OHDA** = 6-Hydroxydopamin

Quelle: adaptiert nach Chiu WH et al., 2015.

Innerhalb der 6-OHDA-lädierten Versuchsgruppen stellte sich nach vier Wochen der Therapie unabhängig von ihrer Medikation kein signifikanter Unterschied ein (s. **Abb. 12 (a)**). Nach 20 Wochen oraler Medikation hingegen

konnte man eine deutlich gesteigerte Gesamtkontaktzeit von ca. 50% in der PPX-Gruppe im Vergleich zur untherapierten Läsionsgruppe feststellen (6-OHDA + H₂O: 85,6 ± 20,8%; 6-OHDA + PPX 138,4 ± 17,5%).

L-Dopa beeinflusste auch die Kontaktzeit des frontalen Agierens relevant: so nahm diese unter den Kontrolltieren signifikant über 40% im Vergleich zu den nicht therapierten Mäusen ab (Post-1: Kontrolle + H₂O: 163,7 ± 8,4%; Kontrolle + L-DOPA: 121,1 ± 11,7%. Post-2: Kontrolle + H₂O: 131,7 ± 15,4%; Kontrolle + L-DOPA: 84,2 ± 6,9%). Ein signifikanter Unterschied der PPX-behandelten Kontrollen und innerhalb aller lädierten Versuchsgruppen konnte nicht beobachtet werden.

Die Daten der anogenitalen Kontaktzeit werden schließlich in **Abb. 12 (c)** dargestellt. Analog zu den bisherigen Ergebnissen reduzierte L-Dopa auch hier binnen aller Kontrollgruppen die Kontaktzeit deutlich (Kontrolle + H₂O: 163,4 ± 20,4%; Kontrolle + L-Dopa: 85,0 ± 9,3%) nach vier Wochen. Zum Zeitpunkt Post-2 erreichte dieser Effekt jedoch keine statistische Signifikanz mehr (Kontrolle + H₂O: 99,4 ± 16,6%; Kontrolle + L-Dopa: 46,1 ± 7,6%). Vergleicht man die PPX- mit den L-Dopa-behandelten Kontrolltieren, so zeigt sich auch hier eine signifikant gesteigerte Kontaktzeit (Post-1: Kontrolle + PPX: 191,6 ± 28,2%. Post-2: Kontrolle + PPX: 137,8 ± 16,8%). Innerhalb der drei 6-OHDA-Gruppen zeigte sich nur bei den PPX-behandelten Mäusen eine Zunahme der anogenitalen Kontaktzeit im Vergleich zu L-Dopa zum Zeitpunkt Post-2 (6-OHDA + L-Dopa: 63,0 ± 11,9%; 6-OHDA + PPX: 137,2 ± 23,6%).

6 Kognitive und Gedächtnis-Funktionen unter Langzeittherapie mit L-Dopa oder PPX

Der Morris Water Maze- sowie der Novel Object Recognition-Test sollten einen möglichen Effekt der laufenden Medikation mit PPX oder L-Dopa auf Gedächtnis- und andere kognitive Funktionen ermitteln. Auch diese Tests wurden je nach acht Wochen (Post-1) und 24 Wochen (Post-2) unter Behandlung durchgeführt. Auf eine präoperative Ausgangstestung wurde aufgrund der Kürze der somit aufeinanderfolgenden Gedächtnistests verzichtet. Damit folgten wir einem Rat, der lange Intervalle zwischen den Testphasen

empfehl, um Gedächtniseffekte der voran gegangenen Trainingssession ausschließen zu können (Vorhees et al., 2006). Im MWM wurden die zurück gelegte Streckenlänge sowie die dafür erforderliche

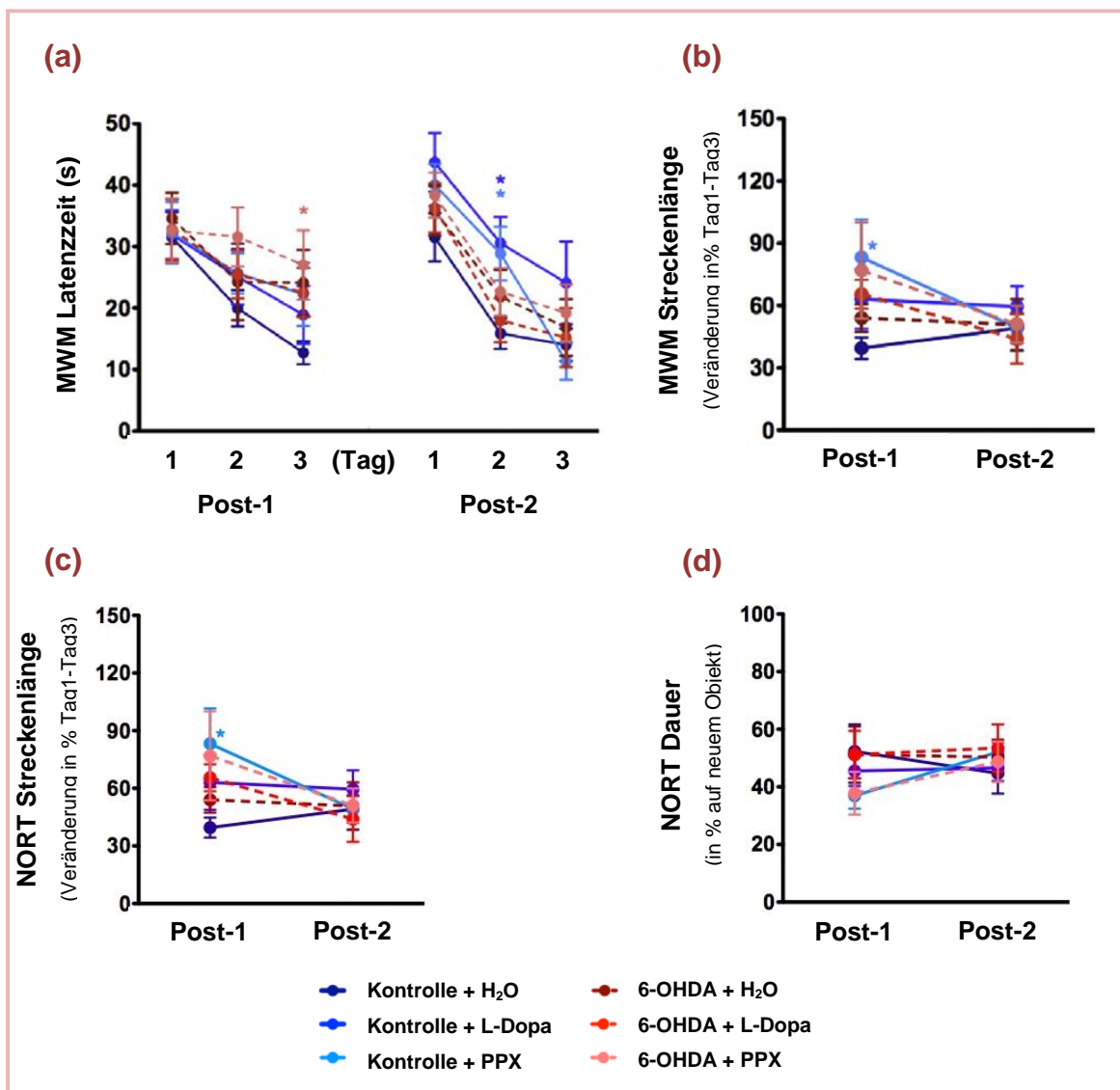


Abb. 13: (a) Latenzzeit im MWM, (b) Streckenlänge im MWM, (c) Streckenlänge im NORT, (d) Dauer im NORT.

* $p < 0,05$ verglichen mit Kontrolle+H₂O (zweifaktorielle ANOVA-Test, post-hoc Bonferroni-Test).

Abk.: MWM = Morris Water maze; NORT = Novel Object Recognition Test; H₂O = Wasser; L-Dopa = Levodopa; PPX = Pramipexol; 6-OHDA = 6-Hydroxydopamin; s = Sekunden

Quelle: Chiu WH et al., 2015.

Latenzzeit als Maß der Fähigkeit des Versuchstiers zur Erinnerung der Lokalisation der Plattform an drei aufeinander folgenden Tagen registriert. Die Latenzzeit ist der am häufigsten verwendete Messparameter im MWM, wobei die Streckenlänge sich in Ergänzung als wertvoll erwiesen hat, da sie

unabhängig der Schwimmgeschwindigkeit gemessen wird und somit eine Perspektive der Gedächtnisfunktion unabhängig der motorischen Fähigkeiten des Versuchstiers liefert (Vorhees et al., 2006).

Die Latenzzeit der unterschiedlichen Untersuchungsgruppen an den beiden postoperativen Testzeitpunkten wird in **Abb. 13 (a)** dargestellt. Ein signifikanter Unterschied bestand lediglich zwischen den PPX-behandelten lädierten Mäusen und den Kontrolltieren ohne Behandlung an Tag 3 nach 4 Wochen (Kontrolle+H₂O: 12,75 ± 1,86 s; 6-OHDA+PPX: 29,99 ± 5,65 s) und zwischen den mit L-Dopa oder PPX behandelten Kontrolltieren und der Kontrollgruppe ohne Behandlung an Tag 2 nach 20 Wochen (Kontrolle+H₂O: 15,9 ± 2,45 s; Kontrolle+L-Dopa: 30,57 ± 4,30 s; Kontrolle+PPX: 28,86 ± 4,36 s). Zwischen den beiden getesteten Zeitpunkten bestand kein statistisch signifikanter Unterschied.

Die Veränderung der Streckenlänge im MWM wird prozentual vom ersten zum dritten Versuchstag in **Abb. 13 (b)** dargestellt. Dabei ergab sich ein signifikanter Unterschied in der Länge der zurückgelegten Strecke nur zwischen den H₂O- und PPX-behandelten Kontrollgruppen zum Zeitpunkt Post-1 (Kontrolle + H₂O; 39,5 ± 5,2%; Kontrolle + PPX: 83,2 ± 18,4%). Zum Testpunkt Post-2 ergaben sich keine signifikanten Differenzen innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen, ebenso wenig wie im Vergleich zwischen den beiden postoperativen Zeitpunkten selbst.

Im NORT wurden zum einen die zurück gelegte Strecke bei der Inspektion des neuen Umfelds (prozentual von Tag 1 nach Tag 3, s. **Abb. 13 (c)**) und zum anderen die unmittelbar auf dem neuen Objekt verbrachte Zeit (prozentual von Gesamtzeit dargestellt, s. **Abb. 13 (d)**) untersucht. Hinsichtlich der Streckenlänge konnte lediglich zum Zeitpunkt Post-1 ein signifikanter Unterschied zwischen den unbehandelten und unter PPX-Therapie stehenden Kontrolltieren ermittelt werden. Bezüglich der Kontaktdauer mit dem neuen Objekt zeigte sich innerhalb der sechs Versuchsgruppen kein signifikanter Unterschied in Post-1 oder Post-2, ebenso wenig wie im Vergleich der beiden Versuchspunkte zueinander.

IV DISKUSSION

1 Gewichtsentwicklung nach binigraler Läsion

Das Körpergewicht sowohl der Kontroll- als auch der lädierten Tiere unter PPX-Behandlung war über die gesamte Versuchsdauer signifikant geringer. Das könnte auf die Interaktion durch PPX mit Neuronen des Hypothalamus zurück zu führen sein, welche die Nahrungsaufnahme steuern. Erst kürzlich wurde eine Teilmenge hypothalamischer Neurone identifiziert, die den Appetit regulieren und D2- als auch Ghrelin-Rezeptoren koexprimieren. Die Interaktion zwischen diesen Rezeptoren und die Formierung von Heteromeren scheinen für den anorexien Effekt der D2-Rezeptoragonisten essentiell zu sein (Kern et al., 2012). Bedingt durch die D2-/D3-Rezeptoraffinität von PPX könnte dies das geringere Körpergewicht der PPX-behandelten Tiere erklären.

Die präzise binigrale Läsion scheint generell in geringerem Ausmaß zu den Problemen der Aphagie und Adypsie zu führen als dies bei kompletter mesenzephaler Depletion beschrieben wurde (Ungerstedt, 1971). Diese vorherigen Probleme werden also vermutlich über mesolimbische Projektionen aus der VTA vermittelt, welche wir ausgespart hatten. Fragestellung 3.1 kann in Kombination mit den Ergebnissen der histologischen Vorarbeiten somit positiv beantwortet werden: dieses neue Modell der *bilateralen* bietet gegenüber der früheren *unilateralen* nigro-striatalen Depletion eine probate Alternative.

2 Entwicklung motorischer Funktionen unter dopaminergem Therapie

Zur Evaluation der Balance, Koordination und Kraft im Kontext motorischer Funktionen führten wir den Rotarod-Test durch. Die dort erbrachte Leistung war bei den 6-OHDA-lädierten Versuchstieren zum Zeitpunkt Post-1 (nicht Post-2) deutlich reduziert. Nach oraler Therapie mit PPX oder L-Dopa zeigten die lädierten Mäuse keinen Leistungsunterschied mehr im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Die zum Zeitpunkt Post-1 gesehenen motorischen

Fehlfunktionen nach bilateraler 6-OHDA-Schädigung der SN scheinen ergo durch die dopaminerge Substitution reduziert werden zu können.

3 Affekt-assoziertes Verhalten unter dopaminerger Langzeittherapie

Infolge der Läsion durch 6-OHDA zeigten alle Versuchstiere im Vergleich zu den Kontrollgruppen im FST eine signifikant höhere Floating-Zeit sowie geringere Struggling-Aktivitäten. Sowohl L-Dopa als auch PPX reduzierten die im FST beobachtete Floating-Zeit sowohl in der Läsions- als auch der Kontrollgruppe. Im SIT hingegen steigerte nur PPX die Kontaktzeiten über alle Gruppen hinweg, wogegen L-Dopa sie bei den Kontrolltieren senkte. Ein gesteigertes Treibenlassen im FST zeigt ein allgemein negatives emotionales Befinden sowie Anhedonie durch das Annehmen der Hilflosigkeit in einer unvermeidbaren Situation (Porsolt et al., 1977). Dies wurde in Rattenmodellen mit partieller intranigraler 6-OHDA-Läsion oder schwerer Läsion durch MPTP bereits nachgewiesen (Branchi et al., 2008; Tadaiesky et al., 2008; Castro et al., 2013).

In Kongruenz zu den Ergebnissen anderer Autoren wiesen wir eine gesteigerte Floating-Zeit lädierter Mäuse im Vergleich zu den Kontrolltieren nach. Diesen Effekt konnten sowohl PPX als auch L-Dopa in den lädierten wie unlädierten Gruppen reduzieren. Als weiteren Parameter im FST überprüften wir die Struggling-Zeit, welche eine positive Stimmungslage andeutet. Eine Zunahme der Struggling-Zeit zeigt ein aktives stressbewältigendes Verhalten an (Liebsch et al., 1998). Diesbezüglich konnte aber weder in den 6-OHDA- noch den scheinoperierten Verhaltensgruppen ein statistisch signifikanter Unterschied erreicht werden.

Auch die unter Therapie mit L-Dopa oder PPX stehenden Tiere änderten ihr Struggling-Verhalten bis zum Zeitpunkt Post-2 nicht signifikant, auch wenn ein Trend der Struggling-Zunahme im Vergleich zu den unbehandelten Tieren beobachtbar war. Die gesteigerte Struggling-Zeit der Gruppen Kontrolle + L-Dopa und Kontrolle + PPX zum Zeitpunkt Post-1 dürfte auf einen ungewöhnlich hohen Dopaminspiegel oder ein Ungleichgewicht des katecholaminergen Systems im gesunden Hirn zurück zu führen sein. Zusammengefasst zeigte die

orale Langzeittherapie sowohl mit L-Dopa als auch PPX einen antidepressiven Effekt im FST.

Zur Evaluation ängstlichen Verhaltens führten wir zusätzlich den SIT durch. Wie durch File et al. 2003 beschrieben führt eine gesteigerte Ängstlichkeit im Tierversuch zu verringerter Aktivität im Umgang mit neuen Artgenossen. In unserer Studie traten diese Effekte im Sinne einer verminderten Gesamtkontaktzeit der lädierten, nicht therapierten Tiere ebenfalls auf. Insbesondere stellten wir fest, dass L-Dopa die Kontaktzeit unter den Kontrolltieren in allen Sparten (gesamt, frontal sowie anogenital) reduzierte, was nach obig geschilderter Schlussfolgerung ein gesteigertes Angstverhalten nahelegt. Dieses Resultat steht in Einklang mit vorherigen Forschungsergebnissen, welche ebenso eine moderate Steigerung ängstlichen Verhaltens unter L-Dopa im 6-OHDA-Rattenmodellen attestierten (Eskow Jaunarajs et al., 2010; Eskow Jaunarajs et al., 2012). Demgegenüber zeigte sich sowohl bei lädierten als auch scheinoperierten Tieren unter PPX-Therapie eine Zunahme der anogenitalen und gesamten Kontaktzeit, was neben anxiolytischen Effekten (Bartoszyk, 1998; Alonso-Navarro et al., 2007) auch die Induktion zwanghafter Verhaltensweisen andeutet, so wie dies vorab klinisch und in Tiermodellen gesehen wurde (Sansone et al., 2007; Driver-Dunckley et al., 2007; Munhoz et al., 2009; Engeln et al., 2012; Riddle et al., 2012).

Im FST zeigten zusammenfassend sowohl PPX als auch L-Dopa antidepressive Effekte, im SIT konnte hingegen nur PPX die Stimmungslage der Versuchstiere relevant verbessern. PPX scheint also einen besonders antidepressiven Effekt zu haben. Zu diesem Ergebnis kamen auch bisherige Studien im Tierversuch (Siuciak et al., 2004; Schulte-Herbruggen et al., 2012) und klinische Versuche unter Monotherapie (Barone et al., 2010) sowie in Kombination mit L-Dopa (Rektorova et al., 2005).

4 Gedächtnisfunktionen unter dopaminerger Langzeittherapie

Zur Testung von Veränderungen kognitiver Funktionen, die vor allem dem Hippocampus zugeordnet werden, führten wir das MWM und den NORT durch. Als wichtige Funktionen in obigem Verständnis sind vor allem das Gedächtnis

und Lerneffekte zu nennen. Wie aus **Tab. 4** bereits ersichtlich ist, sind die Ergebnisse bisheriger bilateraler Nagermodelle im Bezug auf diese Parameter kontrovers zu betrachten. Gründe hierfür sind unter anderem die Diversivität der Untersuchungsmodelle. So sollten die Dopaminkonzentration im lädierten Hirn, eine Behandlung mit Desipramin vor 6-OHDA-Läsion, die exakte Läsionslokalisation durch das Neurotoxin und interindividuelle Unterschiede der Spezies (in o. g. Kontext also Maus versus Ratte) berücksichtigt werden.

Beim MWM besteht die Aufgabe für die Versuchstiere darin, eine unter der Wasseroberfläche versteckte Plattform mittels räumlicher Orientierungshilfen aufzufinden (Garthe et al., 2013). Wie bereits erläutert, steigerte die PPX-Therapie in unserer Versuchsreihe die zurückgelegte Strecke in den Reihen der Kontrolltiere signifikant gegenüber nicht behandelten Tieren nach vier Wochen der Behandlung. Ein genereller Effekt unter dopaminergischer Therapie auf Gedächtnis- oder Lernfunktionen konnte bei den lädierten Mäusen nicht beobachtet werden. Dies entspricht auch den Ergebnissen anderer Autoren, bei denen keine räumlichen Gedächtnisdefizite und somit kein Unterschied zu den Kontrollgruppen beobachtet werden konnte (Branchi et al., 2008; Castro et al., 2013). Dem stehen Studien gegenüber, die nach stattgefundener 6-OHDA-Läsion Gedächtnisdefizite attestieren in Form gesteigerter Dauer (Ferro et al. 2005; Tadaiesky et al., 2008; Braun et al., 2012) oder größerer zurückgelegter Strecke (Braun et al., 2012) im MWM bis zum Auffinden der versteckten Plattform. Die neuroprotektive Vorbehandlung mit Desipramin vor 6-OHDA-Läsion in unserem Tiermodell könnte die Diskrepanz z. B. zu Ferro et al. oder Braun et al. erklären. Wie Bonito-Oliva et al. neuerdings nämlich zeigen konnten, kam es in einem bilateralen Modell 6-OHDA-lädierter Mäuse zu einem verringerten Level an Noradrenalin im Bereich von Striatum und Hippocampus, was nach vorhergehender Desipramin-Therapie im Vergleich zu den Kontrolltieren nicht mehr zu beobachten war. Im Hinblick auf kognitive Funktionen in Tiermodellen könnten andere Neurotransmitter, insbesondere Noradrenalin, somit möglicherweise eine wichtige Rolle spielen.

Im Einklang mit den Daten von Pioli et al. ließ sich auch im NORT kein signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrolltieren nachweisen. Bei der Diskriminierung eines vertrauten gegenüber einem dem Tier neuen Objekt

beobachteten andere Forscher einen Mangel nach 6-OHDA- (de Leonibus et al., 2007; Bonito-Oliva et al., 2014) oder MPTP-Läsion (Moriguchi et al., 2012). Erneut liegt im Vergleich dieser Studien der Schluss nahe, dass eine Vorbehandlung mit Desipramin zur Protektion noradrenerger Neurone ebenso wie der Ort der Läsion in Betracht gezogen werden muss. Der Vorteil einer wie unsererseits verwendeten binigralen Läsion mittels 6-OHDA liegt im Schutz der VTA, welche bei striataler Injektion sehr wahrscheinlich in Mitleidenschaft gezogen wird (Ungerstedt, 1968). Ebenso wird eine systemische Verabreichung von MPTP diesen Effekt sowohl in der SN als auch VTA zur Folge haben (Depboylu et al., 2013). Dies ist von Relevanz, da die Proliferation von Vorläuferzellen in der subgranulären Zone durch Innervation seitens der SN und VTA erfolgt (Höglinger et al., 2014). Weiterhin wurde nach dopaminergem Verarmung des nigrostriatalen Pfades auch eine verringerte hippocampale Dopaminkonzentration nachgewiesen (Costa et al., 2012; Bonito-Oliva et al., 2014).

5 Übersicht bisheriger Studien zu nicht-motorischen Symptomen

Eine Auflistung voran gegangener Studien mit dem Fokus nichtmotorischer Symptome in bilateralen toxininduzierten Tierversuchen des Morbus Parkinson zeigt **Tab. 5**.

	FST	SIT	NORT	MWM	Läsionsort / Dosierung
6-OHDA					
Maus					
Bonito-Oliva et al., 2014			+		STR / 4 µg
De Leonibus et al., 2007			+		STR / 4,5 µg
Unsere Daten	+	+	-	-	SN / 4 µg
Ratte					
Braun et al., 2012				+	STR / 5 µg
Pioli et al., 2008			-		SN / 6 µg
Tadaiesky et al., 2008	+	+		+	STR / 12 µg
Branchi et al., 2008	+	+		-	STR / 3,5 µg
Ferro et al., 2005				+	SN / 6 µg
MPTP					
Maus					
Moriguchi et al., 2012			+		25 mg/kg
Luchtman et al., 2012				+	25 mg/kg
Pothakos et al., 2009				+	25 mg/kg
Ratte					
Castro et al., 2013	+	+		-	i.n. / 1 mg
Ferro et al., 2005				+	SN / 6 µg

Tab. 5: Auflistung toxinbasierter bilateraler Nager-Modelle des IPS. (modifiziert nach: Chiu et al., 2015)

+ = signifikanter Unterschied im Vgl. zur Kontrolle. **-** = kein Unterschied im Vgl. zur Kontrolle.

Abk: **FST** = Forced Swim Test; **SIT** = Social Interaction Test; **NORT** = Novel Object Recognition Test; **STR** = Striatum; **SN** = Substantia nigra; **i.n.** = intranasal; **6-OHDA** = 6-Hydroxydopamin; **MPTP** = 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin; **mg** = Milligramm; **kg** = Kilogramm; **µg** = Mikrogramm

6 Schlussfolgerung

Nicht-motorische Symptome des idiopathischen Parkinsonsyndroms wie Gedächtnisstörungen, Angstgefühle und Depression, aber auch Geruchsstörungen, Obstipation oder Schlafstörungen können dem Auftreten motorischer Symptome um mehr als ein Jahrzehnt vorausgehen (Stiasny-Kolster et al., 2005; Chaudhuri et al., 2009). Sie können als prämotorische Risikofaktoren der Parkinson-Krankheit angesehen werden und eröffnen dadurch zukünftig die Möglichkeit krankheitsmodifizierender Therapien. Hintergrund dieser Überlegung ist die Kombination folgender Erkenntnisse: Erstens reagieren neuropsychiatrische Erkrankungen wie die hier untersuchten (ergo Ängstlichkeit und depressives Verhalten sowie kognitive Einschränkungen) positiv auf eine dopaminerge Therapie (Chaudhuri et al., 2009). Zweitens: auch durch gestörte Katecholaminbahnen im limbischen System kommt es zu Symptomen der Depression, welche unter dopaminerger Therapie rückläufig sind (Rektorova et al., 2005; Barone et al., 2010).

Unsere Daten unterstützen somit die Theorie, dass sowohl L-Dopa als auch PPX in unterschiedlicher Ausprägung das nicht-motorische Verhalten 6-OHDA-lädierter Mäuse beeinflussen. Insbesondere zeigten wir auf, dass PPX ausgesprochene antidepressive Wirkungen besitzt, wie die Verbesserungen der Versuchstiere unter Therapie im FST und SIT zeigten. Leider konnten wir jedoch keine statistisch signifikanten Ergebnisse im Hinblick auf die Veränderung kognitiver Funktionen unter dopaminerger Therapie erbringen. Es werden zukünftig weitere Studien benötigt, um einen Zusammenhang nicht-motorischer Frühsymptome des IPS mit nicht-dopaminerger bzw. dopaminerger Neurotransmission verifizieren zu können. Wir hoffen, dass unsere Arbeit dabei anderen Forschungsarbeiten eine wichtige Brücke schlägt.

V Appendix

1 Literatur

1. Aarsland D, Andersen K, Larsen JP, Lolk A, Kragh-Sørensen P (2003) *Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson disease: an 8-year prospective study*. **Arch Neurol**. 60(3): 387-392.
2. Alonso-Navarro H, Jiménez-Jiménez FJ (2007) *Panic attack like episodes possibly associated with pramipexole therapy in Parkinson's disease*. **Eur J Neurol**. 14(5): e1.
3. Alvarez-Fischer D, Blessmann G, Trosowski C, Béhé M, Schurrat T, Hartmann A, Behr TM, Oertel WH, Höglinger GU, Höffken H (2007) *Quantitative [(123)I]FP-CIT pinhole SPECT imaging predicts striatal dopamine levels, but not number of nigral neurons in different mouse models of Parkinson's disease*. **Neuroimage**. 38(1): 5-12.
4. Antunes M, Biala G (2012) *The novel object recognition memory: neurobiology, test procedures, and its modifications*. **Cogn Process**. 13(2): 93-110.
5. Barone P, Antonini A, Colosimo C, Marconi R, Morgante L, Avarello TP, Bottacchi E, Cannas A, Ceravolo G, Ceravolo R, Ciccarelli G, Gaglio RM, Giglia RM, Iemolo F, Manfredi M, Meco G, Nicoletti A, Pederzoli M, Petrone A, Pisani A, Pontieri FE, Quatrone R, Ramat S, Scala R, Volpe G, Zappulla S, Bentivoglio AR, Stocchi F, Trianni G, Dotto PD, PRIAMO study group (2009) *The PRIAMO study: A multicenter assessment of nonmotor symptoms and their impact on quality of life in Parkinson's disease*. **Mov Disord**. 24(11): 1641-1649.
6. Barone P, Poewe W, Albrecht S, Debieuvre C, Massey D, Rascol O, Tolosa E, Weintraub D (2010) *Pramipexole for the treatment of depressive symptoms in patients with Parkinson's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial*. **Lancet Neurol**. 9: 573-580.
7. Bartoszyk GD (1998) *Anxiolytic effects of dopamine receptor ligands: I. Involvement of dopamine autoreceptors*. **Life Sci**. 62(7): 649-663.

8. Berendse HW, Booij J, Francot CM, Bergmans PL, Hijman R, Stoof JC, Wolters EC (2001) *Subclinical dopaminergic dysfunction in asymptomatic Parkinson's disease patients' relatives with a decreased sense of smell.* **Ann Neurol.** 50(1): 34-41.
9. Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, Jellinger K, Seitelberger F (1973) *Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington.* **J. Neurol. Sci.** 20: 415-455.
10. Betarbet R, Sherer TB, Greenamyre JT (2002) *Animal models of Parkinson's disease.* **Bioessays.** 24 (4): 308-318.
11. Bonito-Oliva A, Pignatelli M, Spigolon G, Yoshitake T, Seiler S, Longo F, Piccinin S, Kehr J, Mercuri NB, Nisticò R, Fisone G (2014) *Cognitive impairment and dentate gyrus synaptic dysfunction in experimental parkinsonism.* **Biol Psychiatry.** 75(9): 701-710.
12. Braak H, Del Tredici K, Bratzke H, Hamm-Clement J, Sandmann-Keil D, Rüb U (2002) *Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages).* **J Neurol.** 249 Suppl 3: III/1-5.
13. Braak H, Bohl JR, Müller CM, Rüb U, de Vos RA, Del Tredici K (2006) Stanley Fahn Lecture 2005: *The staging procedure for the inclusion body pathology associated with sporadic Parkinson's disease reconsidered.* **Mov Disord.** 21(12): 2042-2051.
14. Branchi I, D'Andrea I, Armida M, Cassano T, Pèzzola A, Potenza RL, Morgese MG, Popoli P, Alleva E (2008) *Nonmotor symptoms in Parkinson's disease: investigating early-phase onset of behavioral dysfunction in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat-model.* **J Neurosci Res.** 86(9): 2050-2061.
15. Braun AA, Graham DL, Schaefer TL, Vorhees CV, Williams MT (2012) *Dorsal striatal dopamine depletion impairs both allocentric and egocentric navigation in rats.* **Neurobiol Learn Mem.** 97(4): 402-408.
16. Brück A, Kurki T, Kaasinen V, Vahlberg T, Rinne JO (2004) *Hippocampal and prefrontal atrophy in patients with early non-demented Parkinson's disease is related to cognitive impairment.* **J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 75(10): 1467-1469.

17. Brusa L, Bassi A, Stefani A, Pierantozzi M, Peppe M, Caramia MD, Boffa L, Ruggieri S, Stanzione P (2003) *Pramipexole in comparison to L-dopa: a neuropsychological study*. **J Neural Transm.** 110(4): 373-380.
18. Buter TC, van den Hout A, Matthews FE, Larsen JP, Brayne C, Aarsland D (2008) *Dementia and survival in Parkinson disease: a 12-year population study*. **Neurology.** 70(13): 1017-1022.
19. Calabresi P, Di Filippo M, Ghiglieri V, Tambasco N, Picconi B (2010) *Levodopa-induced dyskinesias in patients with Parkinson's disease: filling the bench-to-bedside gap*. **Lancet Neurol.** 9(11): 1106-1117.
20. Campos FL, Carvalho MM, Cristovão AC, Baltazar G, Salgado AJ, Kim YS, Sousa N (2013) *Rodent models of Parkinson's disease: beyond the motor symptomatology*. **Front Behav Neurosci.** 7: 175.
21. Castro AA, Wiemes BP, Matheus FC, Lapa FR, Viola GG, Santos AR, Tasca CI, Prediger RD (2013) *Atorvastatin improves cognitive, emotional and motor impairments induced by intranasal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) administration in rats, an experimental model of Parkinson's disease*. **Brain Res.** 1513: 103-116.
22. Chaudhuri KR, Schapira AH (2009) *Non-motor symptoms of Parkinson's disease; dopaminergic pathophysiology and treatment*. **Lancet Neurol.** 8(5): 464-474.
23. Chiu WH, Depboylu C, Hermanns G, Maurer L, Windolph A, Oertel WH, Ries V, Höglinger GU (2015) *Long-term treatment with L-DOPA or pramipexole affects adult neurogenesis and corresponding non-motor behavior in a mouse model of Parkinson's disease*. **Neuropharmacology.** 95: 367-376.
24. Cools R (2006) *Dopaminergic modulation of cognitive function-implications for L-DOPA treatment in Parkinson's disease*. **Neurosci Biobehav Rev.** 30(1): 1-23.
25. Costa A, Peppe A, Dell'Agnello G, Caltagirone C; Carlesimo GA (2009) *Dopamine and cognitive functioning in de novo subjects with Parkinson's disease: effects of pramipexole and pergolide on working memory*. **Neuropsychologia.** 47(5): 1374-1381.
26. Costa C, Sgobio C, Siliquini S, Tozzi A, Tantucci M, Ghiglieri V, Di Filippo M, Pendolino V, de Iure A, Marti M, Morari M, Spillantini MG, Latagliata

- EC, Pascucci T, Puglisi-Allegra S, Gardoni F, Di Luca M, Picconi B, Calabresi P (2012) *Mechanisms underlying the impairment of hippocampal long-term potentiation and memory in experimental Parkinson's disease*. **Brain**. 135(Pt 6): 1884-1899.
27. Dauer W, Przedborski S (2003) *Parkinson's disease: mechanisms and models*. **Neuron**. 39: 889-909.
28. De Leonibus E, Pascucci T, Lopez S, Oliverio A, Amalric M, Mele A (2007) *Spatial deficits in a mouse model of Parkinson disease*. **Psychopharmacology (Berl.)**. 194(4): 517-525.
29. Depboylu C, Maurer L, Matusch A, Hermanns G, Windolph A, Béhé M, Oertel WH, Höglinger GU (2013) *Effect of long-term treatment with pramipexole or levodopa on presynaptic markers assessed by longitudinal [¹²³I]FP-CIT SPECT and histochemistry*. **Neuroimage**. 79: 191-200.
30. Dickson DW, Fujishiro H, Orr C, DelleDonne A, Josephs KA, Frigerio R, Burnett M, Parisi JE, Klos KJ, Ahlskog JE (2009) *Neuropathology of non-motor features of Parkinson disease*. **Parkinsonism Relat Disord**. 15 Suppl 3: S1-5.
31. Driver-Dunckley ED, Noble BN, Hentz JG, Evidente VG, Caviness JN, Parish J, Krahn L, Adler CH (2007) *Gambling and increased sexual desire with dopaminergic medications in restless legs syndrome*. **Clin Neuropharmacol**. 30(5): 249-255.
32. Engeln M, Ahmed SH, Vouillac C, Tison F, Bezard E, Fernagut PO (2012) *Reinforcing properties of Pramipexole in normal and parkinsonian rats*. **Neurobiol Dis**. 49c: 79-86.
33. Eskow Jaunarajs KL, Dupre KB, Ostrock CY, Button T, Deak T, Bishop C (2010) *Behavioral and neurochemical effects of chronic L-DOPA treatment on nonmotor sequelae in the hemiparkinsonian rat*. **Behav Pharmacol**. 21(7): 627-637.
34. Eskow Jaunarajs KL, George JA, Bishop C (2012) *L-Dopa-induced dysregulation of extrastriatal dopamine and serotonin and affective symptoms in a bilateral rat model of Parkinson's disease*. **Neuroscience**. 218: 342-256.
35. Fahn S (1999) *Parkinson disease, the effect of levodopa, and the ELLDOPA trial. Earlier vs Later L-DOPA*. **Arch Neurol**. 56(5): 529-535

36. Fénelon G, Mahieux F, Huon R, Ziegler M (2000) *Hallucinations in Parkinson's disease: prevalence, phenomenology and risk factors*. **Brain**. 123 (Pt 4): 733-745.
37. Fernandez-Ruiz J, Doudet D, Aigner TD (1999) *Spatial memory improvement by levodopa in parkinsonian MPTP-treated monkeys*. **Psychopharmacology (Berl.)**. 147(1): 104-107.
38. Ferro MM, Bellissimo MI, Anselmo-Franci JA, Angelucci ME, Canteras NS, Da Cunha A (2005) *Comparison of bilaterally 6-OHDA- and MPTP-lesioned rats as models of the early phase of Parkinson's disease: histological, neurochemical, motor and memory alterations*. **J Neurosci Methods**. 148(1): 78-87.
39. File SE, Seth P (2003) *A review of 25 years of the social interaction test*. **Eur J Pharmacol**. 463(1-3): 35-53.
40. Forsaa EB, Larsen JP, Wentzel-Larsen T, Alves G (2010) *What predicts mortality in Parkinson disease?: a prospective population-based long-term study*. **Neurology**. 75(14): 1270-1276.
41. Garthe A, Kempermann G (2013) *An old test for new neurons: refining the Morris water maze to study the functional relevance of adult hippocampal neurogenesis*. **Front Neurosci**. 7: 63.
42. Gerlach M, Double K, Reichmann H, Riederer P (2003) *Arguments for the use of dopamine receptor agonists in clinical and preclinical Parkinson's disease*. **J Neural Transm**. 65: 167–183.
43. Gjerstad MD, Wentzel-Larsen T, Aarsland D, Larsen JP (2007) *Insomnia in Parkinson's disease: frequency and progression over time*. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**. 78(5): 476-479.
44. Goetz CG, Tanner CM, Levy M, Wilson RS, Garron DC (1986) *Pain in Parkinson's disease*. **Mov Disord**. 1(1): 45-49.
45. Goldman JG, Litvan I (2011) *Mild Cognitive Impairment in Parkinson's Disease*. **Minerva Med**. 102(6): 441-459.
46. Gotham AM, Brown RG, Marsden CD (1986) *Depression in Parkinson's disease: a quantitative and qualitative analysis*. **Neurol Neurosurg Psychiatry**. 49(4): 381-389.
47. Grosset D, Taurah L, Burn DJ, MacMahon D, Forbes A, Turner K, Bowron A, Walker R, Findley L, Foster O, Patel K, Clough C, Castleton

- B, Smith S, Carey G, Murphy T, Hill J, Brechany U, McGee P, Reading S, Brand G, Kelly L, Breen K, Ford S, Baker M, Williams A, Hearne J, Qizilbash N, Chaudhuri KR (2007) *A multicentre longitudinal observational study of changes in self reported health status in people with Parkinson's disease left untreated at diagnosis.* **J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 78(5): 465-469.
48. Gurevich EV, Joyce JN (1998) *Distribution of dopamine D3 receptor expressing neurons in the human forebrain: comparison with D2 receptor expressing neurons.* **Neuropsychopharmacol.** 20: 60–80.
 49. Hametner EM, Seppi K, Poewe W (2012) *Role and clinical utility of pramipexole extended release in the treatment of early Parkinson's disease.* **Clin Interv Aging.** 7: 83-88.
 50. Hanna KK, Cronin-Golomb A (2012) *Impact of anxiety on quality of life in Parkinson's disease.* **Parkinsons Dis.** 2012: 640707.
 51. Ho YJ, Eichendorff J, Schwarting RK (2002) *Individual response profiles of male Wistar rats in animal models for anxiety and depression.* **Behav Brain Res.** 136(1): 1-12.
 52. Höglinger GU, Rizk P, Muriel MP, Duyckaerts C, Oertel WH, Caille I, Hirsch EC. (2004) *Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease.* **Nature Neuroscience.** 7(7): 726-735.
 53. Holdorff B, Rodrigues E, Silva AM, Dodel R (2013) *Centenary of Lewy bodies (1912-2012).* **J Neural Transm.** 120(4): 509-516.
 54. Honig H, Antonini A, Martinez-Martin P, Forgacs I, Fave GC, Fox T, Fox K, Mancini F, Canesi M, Odin P, Chaudhuri KR (2009) *Intrajejunal levodopa infusion in Parkinson's disease: a pilot multicenter study of effects on nonmotor symptoms.* **Mov Disord.** 24(10): 1468-1474.
 55. Hornykiewicz O. (1963) *The tropical localization and content of noradrenalin and dopamine (3-hydroxytyramine) in the substantia nigra of normal persons and patients with Parkinson's disease.* Wien, **Klin. Wochenschrift** 75: 309-312.
 56. Hornykiewicz O. (2006) *The discovery of dopamine deficiency in the parkinsonian brain.* **J Neural Transm Suppl.** (70): 9-15.
 57. Jaber M, Robinson SW, Missale C, Caron MG (1996) *Dopamine receptors and brain function.* **Neuropharmacol.** 35: 1503–1519.

58. Kern A, Albarran-Zeckler R, Walsh HE, Smith RG (2012) *Apo-ghrelin receptor forms heteromers with DRD2 in hypothalamic neurons and is essential for anorexigenic effects of DRD2 agonism.* **Neuron** 73; 317-332.
59. Khoo TK, Yarnall AJ, Duncan GW, Coleman S, O'Brien JT, Brooks DJ, Barker RA, Burn DJ (2013) *The spectrum of nonmotor symptoms in early Parkinson disease.* **Neurology.** 80(3): 276-281.
60. Kim HJ, Park SY, Cho YJ, Hong KS, Cho JY, Seo SY, Lee DH, Jeon BS (2009) *Nonmotor symptoms in de novo Parkinson disease before and after dopaminergic treatment.* **J Neurol Sci.** 287 (1-2): 200-204.
61. Langston JW (2006) *The Parkinson's complex: parkinsonism is just the tip of the iceberg.* **Ann Neurol.** 59(4): 591-596.
62. Lee AH, Weintraub D (2012) *Psychosis in Parkinson's disease without dementia: common and comorbid with other non-motor symptoms.* **Mov Disord.** 27(7): 858-863.
63. Leentjens AF, Koester J, Fruh B, Shephard DT, Barone P, Houben JJ (2009) *The effect of pramipexole on mood and motivational symptoms in Parkinson's disease: a meta-analysis of placebo-controlled studies.* **Clin Ther.** 31(1): 89-98.
64. Levin BE, Llabre MM, Reisman S, Weiner WJ, Sanchez-Ramos J, Singer C, Brown MC (1991) *Visuospatial impairment in Parkinson's disease.* **Neurology.** 41(3): 365-359.
65. LeWitt PA, Dubow J, Singer C (2011) *Is levodopa toxic? Insights from a brain bank.* **Neurology.** 77(15): 1414-1415.
66. Lewy FH (1912) *Paralysis agitans. I. Pathologische Anatomie.* **Lewandowsky's Handbuch der Neurologie.** 3. Band. Spez. Neurologie II. Springer, Berlin, 920-933.
67. Liebsch G, Linthorst AC, Neumann ID, Reul JM, Holsboer F, Langraf R (1998) *Behavioral, physiological, and neuroendocrine stress responses and differential sensitivity to diazepam in two Wistar rat lines selectively bred for high- and low-anxiety-related behavior.* **Neuropsychopharmacology** 19: 381-396.
68. Luchtman DW, Meng Q, Song C (2012) *Ethyl-eicosapentaenoate (E-EPA) attenuates motor impairments and inflammation in the MPTP-*

- probenecid mouse model of the Parkinson's disease. Behav Brain Res.* 226 (2): 386-396.
69. Marras C, Lang A (2008) *Invited article: changing concepts in Parkinson disease: moving beyond the decade of the brain. Neurology.* 70(21): 1996-2003.
 70. Martin GE, Myers RD, Newberg DC (1976) *Catecholamine release by intracerebral perfusion of 6-hydroxydopamine and desipramine. Eur J Pharmacol.* 36 (2): 299-311.
 71. Molloy SA, Rowan EN, O'Brien JT, McKeith IG, Wesnes K, Burn DJ (2006) *Effect of levodopa on cognitive function in Parkinson's disease with and without dementia and dementia with Lewy bodies. J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 77(12): 1323-1328.
 72. Moriguchi S, Yabuki Y, Fukunaga K (2012) *Reduced calcium/calmodulin-dependent protein kinase II activity in the hippocampus is associated with impaired cognitive function in MPTP-treated mice. J Neurochem.* 120 (4): 541-551.
 73. Munhoz RP, Fabiani G, Becker N, Teive HA (2009) *Increased frequency and range of sexual behavior in a patient with Parkinson's disease after use of pramipexole: a case report. J Sex Med.* 6(4): 1177-1180.
 74. Nagatsu T, Sawadab M (2009) *L-Dopa therapy for Parkinson's Disease: past, present and future. Parkinsonism Relat Disord.* 15 Suppl. 1: S3-S8.
 75. Narayanan NS, Guarnieri DJ, DiLenoe RJ (2010) *Metabolic hormones, dopamine circuits, and feeding. Front Neuroendocrinol.* 31: 104-112.
 76. Oertel WH, Höglinger GU, Caraceni T, Girotti F, Eichhorn T, Spottke AE, Krieg JC, Poewe W (2001) *Depression in Parkinson's Disease. An update. Adv Neurol.* 86: 373-383.
 77. Olanow CW, Watts RL, Koller WC (2001) *An algorithm (decision tree) for the management of Parkinson's disease (2001): treatment guidelines. Neurology.* 56(11 Suppl 5): S1-88.
 78. Olanow CW, Obeso JA (2011) *Levodopa toxicity and Parkinson disease: still a need for equipoise. Neurology.* 77(15): 1416-1417.
 79. Parkinson Study Group (2004) *Pramipexole vs levodopa as initial treatment for Parkinson disease: a 4-year randomized controlled trial. Arch Neurol.* 61(7): 1044-1053.

80. Parkinson Study Group (2009) *Long-term effect of initiating pramipexole vs levodopa in early Parkinson disease.* **Arch Neurol.** 66(5): 563-570.
81. Paxinos G, Franklin KBJ (2001) *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates.* **Academic Press.** 2nd edition.
82. Piercey MF (1998) *Pharmacology of pramipexole, a dopamine D3-preferring agonist useful in treating Parkinson's disease.* **Clin Neuropsychopharmacol.** 21(3): 141-151.
83. Pillon B, Ertle S, Deweer B, Bonnet AM, Vidailhet M, Dubois B (1997) *Memory for spatial location in 'de novo' parkinsonian patients.* **Neuropsychologia.** 35(3): 221-228.
84. Pioli EY, Meissner W, Sohr R, Gross CE, Bezard E, Bioulac BH (2008) *Differential behavior effects of partial bilateral lesions of ventral tegmental area of substantia nigra pars compacta in rats.* **Neuroscience.** 153(4): 1213-1214.
85. Poewe W, Gerstenbrand F, Ransmayr G, Plöner S (1983) *Premorbid personality of Parkinson patients.* **J Neural Transm Suppl.** 19: 215-224.
86. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M (1977) *Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments.* **Nature** 266; 730-732.
87. Pothakos K, Kurz MJ, Lau YS (2009) *Restorative effect of endurance exercise on behavioral deficits in the chronic mouse model of Parkinson's disease with severe neurodegeneration.* **BMC Neurosci.** 10: 6.
88. Przedborski S (2005) *Pathogenesis of nigral cell death in Parkinson's disease.* **Parkinsonism Relat Disord.** 11 Suppl 1: S3-7.
89. Raskin SA, Borod JC, Tweedy J (1990) *Neuropsychological aspects of Parkinson's disease.* **Neuropsychol Rev.** 1(3): 185-221.
90. Ravina B, Camicioli R, Como PG, Marsh L, Jankovic J, Weintraub D, Elm J (2007) *The impact of depressive symptoms in early Parkinson disease.* **Neurology.** 69(4): 342-347.
91. Rektorova I, Rektor I, Bares M, Dostal V, Ehler E, Fanfrdlova Z, Fiedler J, Klajblova H, Kulist'ak P, Ressler P, Svatova J, Urbanek K, Veliskova J (2005) *Cognitive performance in people with Parkinson's disease and mild or moderate depression: effects of dopamine agonists in an add-on to L-dopa therapy.* **Eur J Neurol.** 12: 9-15.

92. Richard IH (2005) *Anxiety disorders in Parkinson's disease*. **Adv Neurol.** 96: 42–55.
93. Richard IH (2006) *Apathy does not equal depression in Parkinson disease: why we should care*. **Neurology.** 67(1): 10-11.
94. Riddle JL, Rokosik SL, Napier TC (2012) *Pramipexole- and methamphetamine-induced reward-mediated behavior in a rodent model of Parkinson's disease and controls*. **Behav Brain Res.** 233(1): 15-23.
95. Sahakian BJ, Morris RG, Evenden JL, Heald A, Levy R, Philpot M, Robbins TW (1988) *A comparative study of visuospatial memory and learning in Alzheimer-type dementia and Parkinson's disease*. **Brain.** 111(pt 3): 695–718.
96. Salamone JD, Correa M, Yohn S, Lopez Cruz L, San Miguel N, Alatorre L (2016) *The pharmacology of effort-related choice behavior: Dopamine, depression, and individual differences*. **Behav Processes.** 127: 3-17.
97. Sansone RA, Ferlan M (2007) *Pramipexole and compulsive masturbation*. **Psychiatry (Edgmont).** 4(9): 57-59.
98. Santamaría J, Tolosa E, Valles A (1986) *Parkinson's disease with depression: a possible subgroup of idiopathic parkinsonism*. **Neurology.** 36(8): 1130-1133.
99. Schneider JS, Pioli EY, Jianzhong Y, Li Q, Bezard E (2013) *Levodopa improves motor deficits but can further disrupt cognition in a macaque Parkinson model*. **Mov Disord.** 28(5): 663-667.
100. Schrag A (2006) *Quality of life and depression in Parkinson's disease*. **J Neurol Sci.** 248(1-2): 151-157.
101. Schulte-Herbruggen O, Vogt MA, Hortnagl H, Gass P, Hellweg R (2012) *Pramipexole is active in depression tests and modulates monoaminergic transmission, but not brain levels of BDNF in mice*. **Eur J Pharmacol.** 677: 77-86.
102. Senoh S, Witkop B (1959) *Non-enzymatic conversions of dopamine to norepinephrine and trihydroxyphenethylamines*. **J Am Chem Soc.** 81(23): 6222-6231.
103. Seppi K, Weintraub B, Coelho M, Perez-Lloret S, Fox SH, Katzenschlager R, Hametner EM, Poewe W, Rascol O, Goetz CG, Sampaio C (2011) *The Movement Disorder Society Evidence-Based*

*Medicine Review Update: Treatments for the non-motor symptoms of Parkinson's disease. **Mov Disord.** 26 Suppl 3: S42-80.*

104. Shiba M, Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Peterson BJ, Ahlskog JE, Schaid DJ, Rocca WA (2000) *Anxiety disorders and depressive disorders preceding Parkinson's disease: a case-control study. **Mov Disord.** 15: 669-677.*
105. Siuciak JA, Fujiwara RA (2004) *The activity of pramipexole in the mouse forced swim test is mediated by D2 rather than D3 receptors. **Psychopharmacology** 175: 163-169.*
106. Stein MB, Heuser IJ, Juncos JL, Uhde TW (1990) *Anxiety disorders in patients with Parkinson's disease. **Am J Psychiatry.** 147(2): 217-220.*
107. Stiasny-Kolster K, Doerr Y, Möller JC, Höffken H, Behr TM, Oertel WH, Mayer G (2005) *Combination of 'idiopathic' REM sleep behaviour disorder and olfactory dysfunction as possible indicator for alpha-synucleinopathy demonstrated by dopamine transporter FP-CIT-SPECT. **Brain.** 128 (Pt1): 126-137.*
108. Stowe RL, Ives NJ, Clarke C, van Hilten J, Ferreira J, Hawker RJ, Shah L, Wheatley K, Gray R (2008) *Dopamine agonist therapy in early Parkinson's disease. **Cochrane Database Syst Rev.** (2): CD006564.*
109. Suchowersky O, Gronseth G, Perlmutter J, Reich S, Zesiewicz T, Weiner WJ (2006) *Practice Parameter: neuroprotective strategies and alternative therapies for Parkinson disease (an evidence-based review) **Neurology.** 66(7): 976-982.*
110. Tadaiesky MT, Dombrowski PA, Figueiredo CP, Carginin-Ferreira E, Da Cunha C, Takahashi RN (2008) *Emotional, cognitive and neurochemical alterations in a premotor stage model of Parkinson's disease. **Neuroscience.** 156(4): 830-840.*
111. Tandberg E, Larsen JP, Aarsland D, Cummings JL (1996) *The occurrence of depression in Parkinson's disease. A community-based study. **Arch Neurol.** 53(2): 175-179.*
112. Tissingh G, Berendse HW, Bergmans P, DeWaard R, Drukarch B, Stoof JC, Wolters EC (2001) *Loss of olfaction in de novo and treated Parkinson's disease: possible implications for early diagnosis. **Mov Disord.** 16(1): 41-46.*

113. Uchiyama M, Isse K, Tanaka K, Yokota N, Hamamoto M, Aida S, Ito Y, Yoshimura M, Okawa M (1995) *Incidental Lewy body disease in a patient with REM sleep behavior disorder*. **Neurology**. 45: 709-712.
114. Ungerstedt U (1968) *6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons*. **Eur J Pharmacol**. 5(1): 107-110.
115. Ungerstedt U (1971) *Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system*. **Acta Physiol Scand Suppl**. 367: 95-122.
116. van Hilten JJ, Weggeman M, van der Velde EA, Kerkhof GA, van Dijk JG, Roos RA (1993) *Sleep, excessive daytime sleepiness and fatigue in Parkinson's disease*. **J Neural Transm Park Dis Dement Sect**. 5(3): 235-244.
117. Verbaan D, Marinus J, Visser M, van Rooden SM, Stiggelbout AM, van Hilten JJ (2007) *Patient-reported autonomic symptoms in Parkinson disease*. **Neurology**. 69(4): 333-341.
118. Vorhees CV, Williams MT (2006) *Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory*. **Nat. Protoc**. 1(2): 848-858.
119. Weisskopf MG, Chen H, Schwarzschild MA, Kawachi I, Ascherio A (2003) *Prospective study of phobic anxiety and risk of Parkinson's disease*. **Mov Disord**. 18: 646-651.
120. Winner B, Desplats P, Hagl C, Klucken J, Aigner R, Ploetz S, Laemke J, Karl A, Aigner L, Masliah E, Buerger E, Winkler J (2009) *Dopamine receptor activation promotes adult neurogenesis in an acute Parkinson model*. **Exp Neurol**. 219: 543-552.
121. Wu DC, Teismann P, Tieu K, Vila M, Jackson-Lewis V, Ischiropoulos H, Przedborski S (2003) *NADPH oxidase mediates oxidative stress in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease*. **Proc Natl Acad Sci USA**. 100: 6145-6150.

2 Abkürzungen

6-OHDA	6-Hydroxydopamin
Abb.	Abbildung
Abk.	Abkürzung(en)
BGBI.	Bundesgesetzblatt
B x H x T	Breite x Höhe x Tiefe
bzw.	beziehungsweise
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
cm	Zentimeter
d	Tag
D1-5	Dopaminrezeptoren, Typ 1-5
DA	Dopamin
DAT	Dopamintransporter
dt.	deutsch
engl.	Englisch
et al.	et altera (<i>lat.</i> ; <i>dt.</i> : und Weitere)
EU	Europäische Union
FST	Forced Swim Test
H ₂ O	Wasser
i. n.	intranasal
insb.	insbesondere
IPS	Idiopathisches Parkinson-Syndrom
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
lat.	lateinisch
L-Dopa	Levodopa
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
min	Minute(n)
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mod.	modifiziert

MPTP	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin
MWM	Morris Water Maze
NaCl	Natriumchlorid
NAT	Noradrenalin-Transporter
NMF	Nicht-motorische Fluktuationen
NMS	Nicht-motorische Symptome
NORT	Novel Object Recognition Test
Nr.	Nummer
o. g.	oben genannt
PPX	Pramipexol
REM	Rapid Eye Movement
RR	Rotarod
s	Sekunde
s.	siehe
SIT	Social Interaction Test
SN	Substantia nigra
SNpc	Substantia nigra pars compacta
STR	Striatum
Tab.	Tabelle
TSchG	Tierschutzgesetz
USA	Vereinigte Staaten (<i>engl.: United States of America</i>)
vs.	versus
VTA	Area tegmentalis ventralis
z. B.	zum Beispiel

3 Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen/ Herren in Marburg

Dr. J. Adamkiewicz	Institut für Molekularbiologie und Tumorforschung
Prof. Dr. G. Aumüller	Institut für Anatomie und Zellbiologie
Prof. Dr. Dr. H.-D. Basler	Institut für Medizinische Psychologie, Zentrum für Methodenwissenschaften und Gesundheitsforschung
Prof Dr. E. Baum	Abteilung für Allgemeinmedizin, Präventive und Rehabilitative Medizin
Prof. Dr. Dr. J. Daut	Institut für Physiologie und Pathophysiologie
Dr. B. Feuser	Fachbereich Physik
Prof. Dr. B. Gerdes	Klinik für Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie
Prof. Dr. K.-H. Grzeschik	Zentrum für Humangenetik
Prof. Dr. M. Hertl	Klinik für Dermatologie und Allergologie
Prof. Dr. K.J. Klose	Medizinisches Zentrum für Radiologie
Prof. Dr. J. Koolman	Institut für Physiologische Chemie
Prof. Dr. J.-C. Krieg	Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Prof. Dr. P. Kroll	Klinik für Augenheilkunde
PD Dr. A. Leonhardt	Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin
Prof. Dr. R. Lill	Institut für Cytobiologie und Cytopathologie
Prof. Dr. M. Lohoff	Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
Prof. Dr. R. F. Maier	Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin
Prof. Dr. R. Moll	Institut für Pathologie

Prof. Dr. Dr. U. Mueller	Institut für Medizinische Soziologie und Sozialmedizin
Prof. Dr. A. Neubauer	Zentrum für Innere Medizin
Prof. Dr. B. Neumüller	Fachbereich Chemie
Prof. Dr. W. H. Oertel	Klinik für Neurologie
Prof. Dr. T.D. Plant	Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Prof. Dr. H. Renz	Abteilung Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik
Prof. Dr. G. Richter	Ethikkommission
Prof. Dr. M. Riße	Institut für Rechtsmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen
Prof. Dr. H. Schäfer	Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie
Prof. Dr. M. Schofer	Klinik für Orthopädie und Rheumatologie
PD Dr. A. J. Schrader	Klinik für Urologie und Kinderurologie
Prof. Dr. C. Vogelmeier	Klinik für Innere Medizin (Schwerpunkt Pneumologie)
Prof. Dr. U. Wagner	Klinik für Gynäkologie, Gynäkologische Endokrinologie und Onkologie
Prof. Dr. J. Werner	Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
Prof. Dr. H. Wulf	Klinik für Anästhesie und Intensivtherapie

4 Danksagung

Ich möchte den vielen Personen, die mich auf meinem langen Weg zu dieser Doktorarbeit begleitet haben, herzlichen Dank sagen. Insbesondere gilt mein Dank:

Prof Dr. Dr. Wolfgang H. Oertel für die Aufnahme als Doktorand in die Klinik für Neurologie,

meinem Doktorvater Prof. Dr. Günter Höglinger für die Ermöglichung dieser Doktorarbeit, die herzliche Aufnahme in sein Forschungsteam und das intensive Begleiten der Forschungsarbeiten, vor allem aber für die konstruktiven Ratschläge und seine Geduld mit mir in der Finalisierung dieser Doktorarbeit,

Dr. Andreas Borta für die Schulung und Begleitung der Verhaltensversuche,

dem gesamten Team der AG Experimentelle Neurologie am Universitätsklinikum Marburg-Gießen, Standort Marburg, mit meinem Con-Doktoranden Dr. Lukas Maurer, Prof. Dr. Candan Depboylu, Sabine Anfimov, Silke Caspari und vielen weiteren für das große Engagement und die enge Zusammenarbeit, die die Durchführung und Fertigstellung dieses Projektes erst möglich gemacht haben,

dem Team der Tierexperimentellen Einrichtung am Biomedizinischen Forschungszentrum unter Guido Schemken für die Anleitung und Unterstützung bei der täglichen Pflege der Versuchstiere,

und schließlich denjenigen, denen ich diese Doktorarbeit gewidmet habe: meiner Familie, für das Ermöglichen meines Medizinstudiums und die Motivation diese Arbeit zuende zu bringen.

5 Publikationen

Arias-Carrión O, Yamada E, Freundlieb N, Djufri M, Maurer L, Hermanns G, Ipach B, Chiu WH, Steiner C, Oertel WH, Höglinger GU (2009) *Neurogenesis in substantia nigra of parkinsonian brains?* **J Neural Transm Suppl**, (73): 279-285.

Depboylu C, Maurer L, Matusch A, Hermanns G, Windolph A, Béhé M, Oertel WH, Höglinger GU (2013) *Effect of long-term treatment with pramipexole or levodopa on presynaptic markers assessed by longitudinal [123I]FP-CIT SPECT and histochemistry.* **Neuroimage**, 79: 191-200.

Chiu WH, Depboylu C, Hermanns G, Maurer L, Windolpf A, Oertel WH, Ries V, Höglinger GU (2015) *Long-term treatment with L-DOPA or pramipexole affects adult neurogenesis and corresponding non-motor behaviors in a mouse model of Parkinson´s disease.* **Neuropharmacology**, 95: 367-376.

Weitere Publikationen:

Hermanns G (2012) Band B, Kap. 11 „Notfallmedizin“. **ALLEX - Alles fürs Examen**, Georg Thieme Verlag.

Külls C, Stracke C, Hermanns G (2014) *Implementierung optimaler Ersthelferkompetenz an alle Mitarbeiter eines Krankenhauses – das Beispiel Überlingen.* In: **Patientensicherheit**, Hsgr: Burgard G, Baberg H, Popgen G, MWV Verlag.

Funcke S, Sander M, Goepfert MS, Groesdonk H, Heringlake M, Hirsch J, Kluge S, Krenn C, Maggiorini M, Meybohm P, Salzwedel C, Saugel B, Wagenpfeil G, Wagenpfeil S, Reuter DA; Hermanns G as member of ICU-CardioMan Investigators (2016). *Practice of hemodynamic monitoring and management in German, Austrian, and Swiss intensive care units: the multicenter cross-sectional ICU-CardioMan Study.* **Ann Intensive Care**, 6(1):49.

6 Zusammenfassung

Nicht-motorische Symptome (NMS) wie kognitive Beeinträchtigungen und Depression werden beim idiopathischen Parkinson-Syndrom (IPS) häufig beobachtet und können dem Beginn motorischer Symptome um Jahre vorausgehen. Daher könnte es helfen die zugrundeliegenden pathologischen Veränderungen im Gehirn zu verstehen, um die Erkrankung vor Auftreten motorischer Symptome zu diagnostizieren und darüber hinaus eine potentiell krankheits-modifizierende Behandlung einzusetzen.

In dieser Studie untersuchten wir den Langzeiteffekt von Levodopa (L-Dopa) und Pramipexol (PPX), einem Dopaminagonisten, erstmals in einem akuten Mausmodell mit bilateraler intranigraler 6-OHDA-Läsion, um den Einfluss einer frühzeitigen dopaminergen Behandlung auf NMS abzuschätzen.

Interessanterweise zeigte PPX einen antidepressiven und anxiolytischen Effekt im Forced Swim Test und Social Interaction Test. Allerdings bestand sowohl unter L-Dopa als auch PPX keine signifikante Veränderung der Lern- und Gedächtnisfunktionen (untersucht im Morris Water Maze und Novel Object Recognition Test) nach Dopamin-Verarmung beziehungsweise Dopamin-Ersatz.

Die Ergebnisse dieser Studie unterstreichen die Bedeutung einer dopaminergen Therapie schon im Frühstadium des IPS, um das Auftreten von NMS zu minimieren und damit die Lebensqualität der betroffenen Patienten zu verbessern.

7 Abstract

Non-motor symptoms (NMS) such as cognitive impairment and depression are often observed in idiopathic parkinson's syndrome (IPS) and can precede the onset of motor symptoms for years. Therefore, to understand the underlying pathological alteration in the brain could help to diagnose the disease before the appearance of motor symptoms, and to further apply potentially disease-modifying treatment.

In this study we investigated the long-term effects of Levodopa (L-Dopa) and pramipexole (PPX), a dopamine agonist, for the first time in an acute mouse model of bilateral intranigral 6-OHDA lesion, in order to assess the impact of an early dopaminergic treatment on NMS.

Interestingly, PPX showed an antidepressant and anxiolytic effect in the Forced Swim Test and Social Interaction Test. However, there was no significant change in learning and memory function (investigated in Morris Water Maze and Novel Object Recognition Test) after dopamine depletion and dopamine replacement, respectively.

The results of this study underline the importance of a dopaminergic therapy already in early stages of IPS to minimize the occurrence of NMS and thereby improve the quality of life of the affected patients.